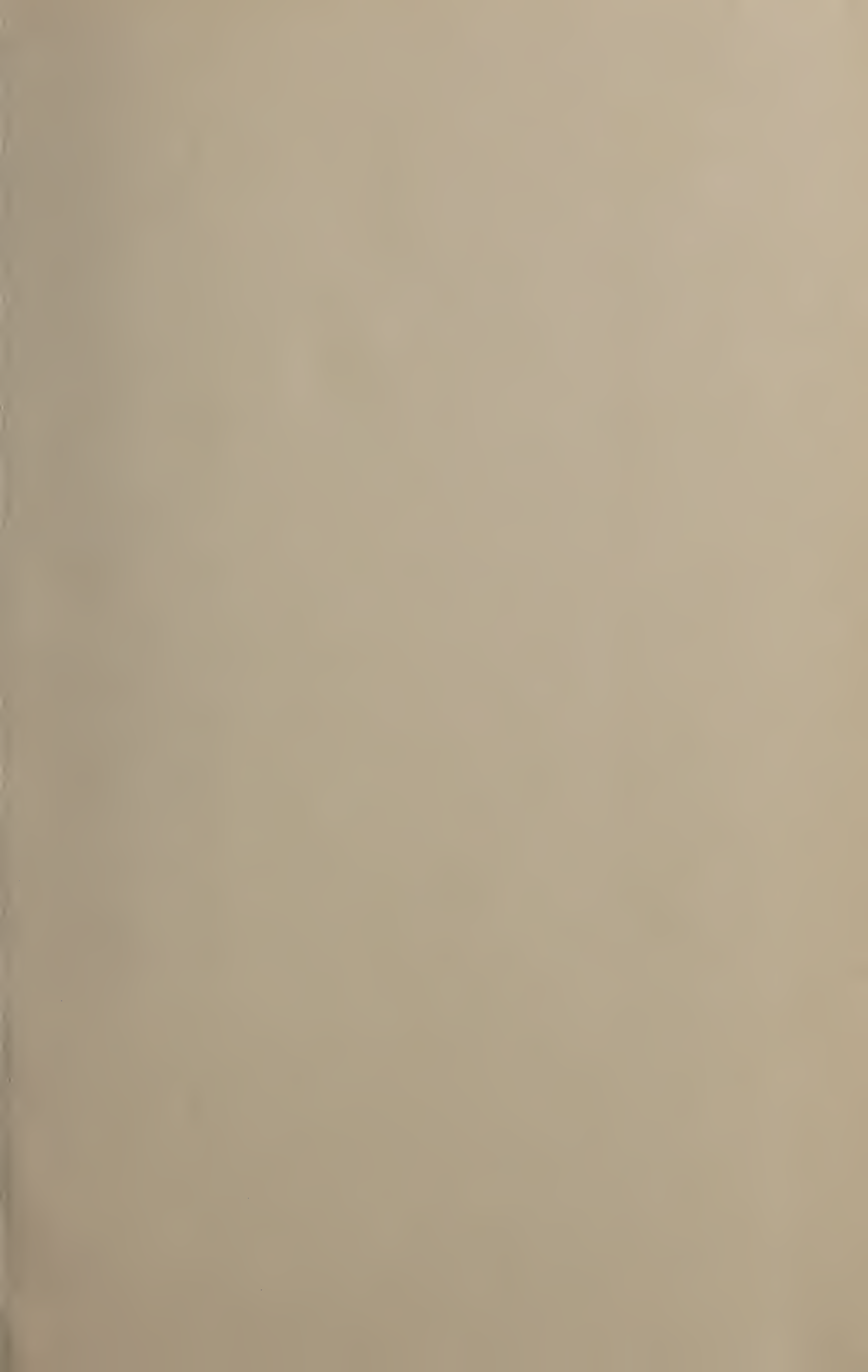
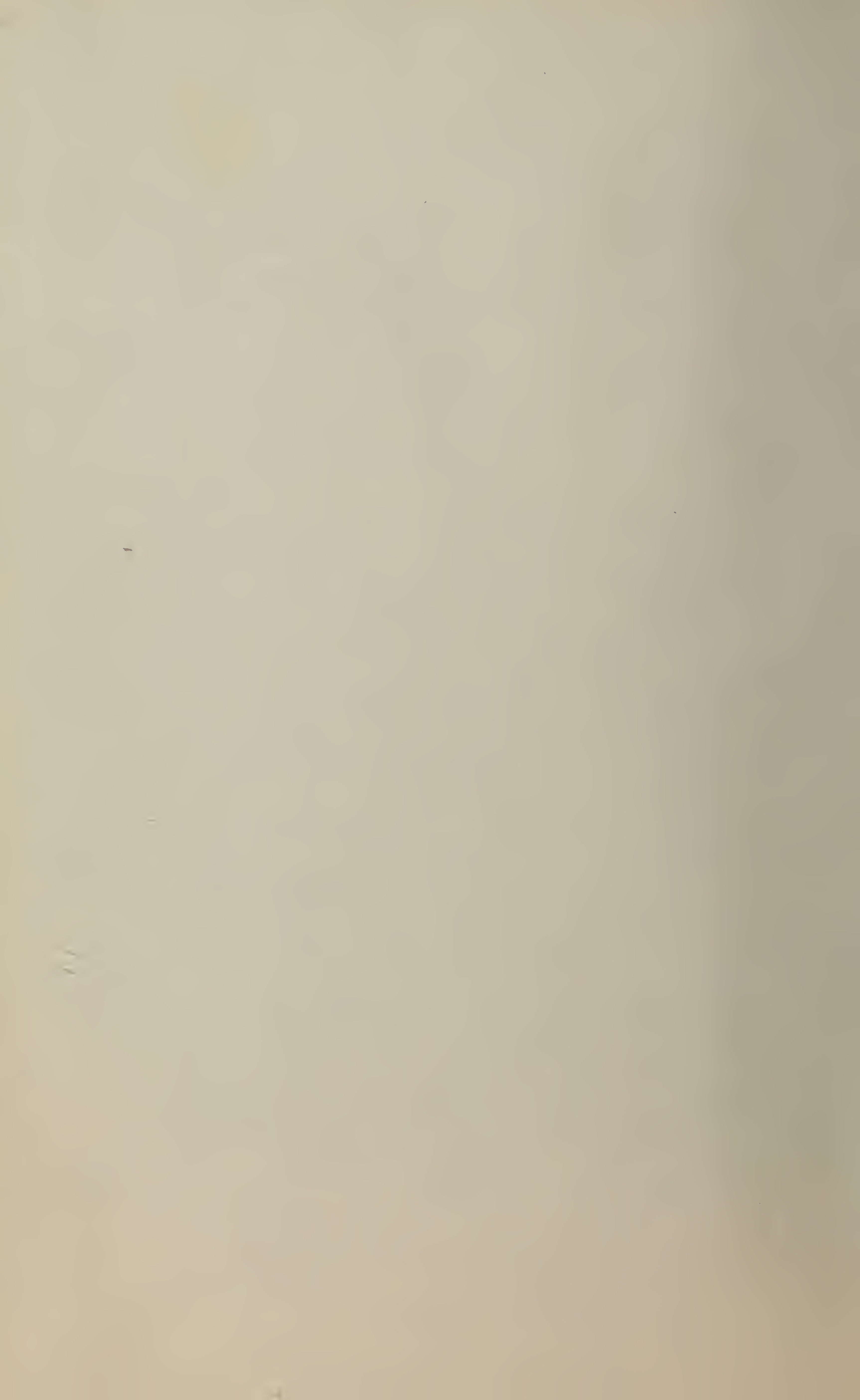










DIE MIKROTECHNIK DER THIERISCHEN MORPHOLOGIE

EINE KRITISCHE DARSTELLUNG

DER

MIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGSMETHODEN

VON

Dr. med. STEFAN APÁTHY

Professor der Zoologie und vergleichenden Anatomie
an der Universität Kolozsvár

ERSTE ABTHEILUNG

Mit 10 Abbildungen in Holzschnitt

BRAUNSCHWEIG
HARALD BRUHN
Verlagsbuchhandlung für Naturwissenschaft und Medicin
1896

Ankündigung

Vorliegendes Werk ist in erster Linie eine kritische Uebersicht der gegenwärtigen mikroskopischen Untersuchungsmethoden mit besonderer Berücksichtigung der thierischen Morphologie. Es enthält eingehende Erörterungen über Vergangenheit, Gegenwart und Zukunft der Mikrotechnik.

Das Buch will *kein Lehrbuch im engeren Sinne* vorstellen; sein Endziel ist die *Begründung einer rationellen Mikrotechnik*. Man möge es auch keineswegs als ein einfaches Repertorium ansehen, in welchem man die verschiedenen Methoden und Recepte nachschlagen kann. Den weitaus grössten Theil der Methoden hat Verfasser selbst geprüft und kritisch bearbeitet und dieser Aufgabe bereits über fünfzehn Jahre gewidmet. Dabei ist er auf eine Anzahl von eigenen neuen Methoden gekommen, welche hier zuerst veröffentlicht sind.

Demnach kann das Werk nicht nur vom bereits geübten *Fachmann*, sondern auch vom *Anfänger* benutzt werden und auch als *Nachschlagebuch* dienen. Am Ende der zweiten Abtheilung wird sich nämlich ein möglichst vollständiges und bibliographisch vollkommenes Litteraturverzeichniss und ein sehr ausführliches Namen- und Sachregister befinden. Auch das Verzeichniss der gebrauchten Abkürzungen der Titel von Zeitschriften und Sammelwerken wird mit der zweiten Abtheilung gegeben. Vorläufig wird es der Leser bei diesem mehr allgemeinen ersten Theil leicht entbehren können. Die Abkürzungen entsprechen übrigens grösstentheils den im zoologischen Jahresbericht der zoologischen Station zu Neapel gebrauchten. Die hinter die Autornamen in eckige Klammern gesetzten fettgedruckten Zahlen beziehen sich auf die Nummer der betreffenden Publication des Autors im alphabetisch geordneten Litteraturverzeichniss am Ende der zweiten Abtheilung.

Ueberall ist die Anordnung des Stoffes sowie die typographische Ausführung des Buches derart, dass auch der Anfänger unschwer finden wird, was er zu lesen braucht und was er vorläufig eventuell ungelesen lassen kann.

Neben eigenen Betrachtungen, Beobachtungen und Versuchen des Verfassers, welche wohl den grösseren Theil des Werkes ausmachen, beruht dasselbe durchgehends auf ernstlichen Quellenstudien. Abgesehen von einigen Fällen, bei denen das Original nicht aufgefunden werden konnte oder dem Verfasser nicht zugänglich war, wurde nichts aus zweiter Hand genommen. Beinahe bei jeder Methode oder sonstigen Angabe ist Verfasser bis zur ersten Publication derselben zurückgegangen und giebt genaue Hinweise auf diese.

Die Beschreibung der bekannten und meist fertig zu beziehenden mikrographischen Apparate und ihres Gebrauches wurde absichtlich ausgeschlossen. Eine Ausnahme bilden einige neue Apparate des Verfassers und diejenigen, welche jeder Mikrograph mit den gewöhnlichen Mitteln eines jeden biologischen

DIE

MIKROTECHNIK

DER

THIERISCHEN MORPHOLOGIE

EINE KRITISCHE DARSTELLUNG

DER

MIKROSKOPISCHEN UNTERSUCHUNGSMETHODEN

VON

DR. MED. STEFAN APÁTHY
Professor der Zoologie und vergleichenden Anatomie
an der Universität Kolozsvár

ERSTE ABTHEILUNG

Mit 10 Abbildungen in Holzschnitt

BRAUNSCHWEIG
HARALD BRUHN
Verlagsbuchhandlung für Naturwissenschaft und Medicin
1896

Druck von Zickfeldt & Andres in Braunschweig.

Allgemeiner Theil.



Einleitung.

Die Summe unserer Kenntnisse über die Methoden, welcher wir uns bei mikroskopischen Untersuchungen in der thierischen und pflanzlichen Morphologie zu bedienen haben, kurz die mikroskopische Technik, ist gegenwärtig an und für sich keine Wissenschaft; sie kann und wird es aber werden. Die mikroskopische Methodologie soll wenigstens eine bedeutende Hilfswissenschaft werden, welche zur Morphologie und Physiologie in ähnlicher Beziehung steht, wie z. B. die Pharmakologie im weiteren Sinne zur Pathologie und Therapie: eine angewandte Mikrochemie und auch eine Art experimentelle Morphologie. Eine experimentelle Morphologie, welche uns in die Lage setzt zielbewusste Versuche zur Erforschung vorhandener Formverhältnisse des Lebenden anzustellen, Hand in Hand mit jener anderen experimentellen Morphologie, welche, heute noch ebenfalls blos in ihren allerersten Anfängen, in das Wesen des Werdens lebender Formen einzudringen bestrebt ist. Eine Wissenschaft, welche weder der Morphologe, noch der Physiologe entbehren kann.

Die Wichtigkeit einer entwickelten mikroskopischen Technik für die gesammte Biologie wurde von jeher anerkannt. Nur von einigen älteren Forschern hören wir hie und da Worte der Missachtung unserer mit raschen Schritten fortschreitenden Technik. Dieselben haben eben ihre hochverdienten Beiträge zur Wissenschaft sogar mit der dürftigsten Technik zu liefern gewusst. Sie haben erreicht, was mit ihren Mitteln auf einem noch vollkommen unbearbeiteten Felde zu erreichen, sie haben beinahe alles gesehen, was mit jener primitiven Ausrüstung zu sehen war. Unsere Pflicht ist aber stets weiter vorzudringen; nicht nur neues, geeigneteres Material zur Untersuchung ausfindig zu machen, sondern auch an demselben Gegenstand immer mehr und noch viel Neues zu sehen. Da wir uns nun nicht anmassen dürfen, geeignetere persönliche Eigenschaften als jene Heroen der Wissenschaft zu besitzen, so müssen wir die hauptsächlichsten Bedingungen des Fortschrittes einerseits in der Vervollkommnung des Mikroskopes und seiner Nebenapparate, andererseits aber in der raschen Weiterbildung unserer mikroskopischen Technik im engeren

Sinne suchen. Und je mehr sich die mikroskopische Methodologie in der Zukunft zu einer wirklichen Wissenschaft ausbilden wird, einen um so grösseren Antheil wird sie auch an den Errungenschaften der gesammten Biologie beanspruchen dürfen. Es wäre also durchaus kein Geringes, ein Forscherleben dieser Technik widmen zu können, zumal die moderne Förderung derselben nicht mehr in dutzendweiser Veröffentlichung buntester Recepte, sondern hauptsächlich in einem tieferen Eindringen in die Wechselbeziehungen zwischen äusseren Agentien und lebenden oder wenigstens dem Leben entstammenden Elementen bestehen soll, und gerade dieses die vielseitigste und schwierigste wissenschaftliche Arbeit ist. In dieser Richtung, nach unseren bescheidenen Kräften, den Weg weiter zu bahnen, zu solchen Arbeiten eine weitere Anregung zu geben, sie durch Zusammentragen des bereits Bekannten und durch Mittheilung eigener Erfahrungen zu erleichtern: das soll die Aufgabe dieses Buches sein.

Wenn wir die grossen Fortschritte der Morphologie, ja der gesammten Biologie, in den zwei letzten Jahrzehnten überblicken und in den Arbeiten selbst, welche jene Fortschritte bewirkten, nach den Bedingungen dieser suchen, so müssen wir von den bereits erwähnten drei Momenten, nämlich dem Auffinden von günstigerem Untersuchungsmaterial, der Vervollkommnung des Mikroskopes und den Fortschritten der Vorbereitungsmethoden für die mikroskopische Untersuchung, Alles in Allem den letzteren den Vorrang zugestehen. Wohl giebt es Forschungswege, welche nur an bestimmten Objecten, welche man zuerst finden musste, angebahnt werden konnten; auch giebt es Vorbereitungsmethoden, deren Resultate blos bei den neuesten optischen Hilfsmitteln zu voller Geltung kommen können; die Mehrzahl unserer neuen Methoden würde aber schon am alten Untersuchungsmaterial und mit den Mikroskopen der fünfziger oder der sechziger Jahre Vorzügliches und Bahnbrechendes geleistet haben.

Die hochwichtigen und zum Theil epochemachenden Arbeiten eines Oscar Hertwig, Fol, Eduard van Beneden, Boveri etc. brauchten unbedingt die Eier von Echinodermen, der Ascaris megalocephala u. s. w. Die feinsten Vorgänge bei der Karyokinese, die Bedeutung von Chromosomen und achromatischen Bestandtheilen des Kernes; das Vorhandensein des Centrosomas in den verschiedensten ruhenden Zellen, seine Rolle bei der Theilung; das Zahlengesetz der Idanten, Aequations- und Reductionstheilung und noch vieles andere hätten trotz Flemming'scher und Hermann'scher Mixturen, trotz Mannigfaltigkeit der Anilinfarben und

Finessen der Anwendung des Hämatoxylins, trotz Feinheit und guter Erhaltung der Schnitte nicht ermittelt werden können, wenn das mikroskopische Bild, sogar bei tausendfachen und noch stärkeren Vergrösserungen, nicht jene Helligkeit und ungemeine Schärfe besässe, welche wir hauptsächlich dem Abbe'schen Beleuchtungsapparat und den apochromatischen Oelimmersionsystemen zu verdanken haben. Ebenso verhält es sich mit der Möglichkeit, dass man die allerfeinsten leitenden Primitivfibrillen, ja sogar die kaum messbaren Elementarfibrillen derselben, durch Goldchlorid oder Methylenblau tingirt, in den Nervenbahnen, inmitten der Menge anderer Structuren deutlich verfolgen kann, weil die Contouren der letzteren durch die angewandte Art der Beleuchtung „ausgelöscht“ werden können, und die intensive Farbe der ersteren im mikroskopischen Bild allein und ungefälscht hervortritt.

Dagegen ist der rasche Aufschwung der vergleichenden Embryologie in den letzten zwei Decennien in erster Linie den Errungenschaften der specielleren Mikrotomtechnik zu verdanken; namentlich dem Umstande, dass lückenlose Schnittserien, in welchen die gegenseitige Lage der Elemente, in günstigen Fällen sogar die feinere Beschaffenheit der letzteren selbst — ein gar nicht begehrter Luxus für die meisten, blos nach der „Normalmethode“ arbeitenden Mikrographen — wohl erhalten bleiben, aus allerlei Embryonen mit Leichtigkeit bis ins Unendliche herzustellen sind. Wir kennen oft citirte und in ihrer Art tüchtige Forscher, welche die Wissenschaft vielleicht nie in nennenswerther Weise bereichert hätten, liesse sich das Paraffin nicht so angenehm hobeln. Mit der Entdeckung Golgi's, dass sich so schöne Nervenbahnen in allerhand Gewebe von allen möglichen Thieren durch Chromsilberniederschläge hineinzaubern lassen, hätte sich schon zur Zeit von Schwann die halbe Welt auf die Neurologie werfen und den grössten Theil der heutigen Nervenlitteratur schon damals niederschreiben können.

Weiterer Beispiele bedarf es wohl nicht. Ein beträchtlicher Theil der heutigen morphologischen Litteratur verdankt seine Entstehung nicht so sehr der Beobachtungsgabe der Verfasser, als vielmehr der relativen Leichtigkeit und Dankbarkeit gewisser technischer Methoden, mit welchen uns die letzten zwei Jahrzehnte bereichert haben. Dieser Umstand ist vielleicht der beste Beweis für die eminente Wichtigkeit der mikroskopischen Technik. Die hohe Schule der biologischen Wissenschaften war zu Ende des vorigen und in der ersten Hälfte des jetzigen Jahrhunderts in Frankreich; gegenwärtig

ist sie in Deutschland. Die mikroskopische Technik wurde von den französischen Forschern bis in die allerletzte Zeit auffallend vernachlässigt, sie begnügten sich — mit wenigen Ausnahmen — mit den längst veralteten, primitivsten Methoden; in Deutschland dagegen ist die mikroskopische Technik in einer noch nie dagewesenen Weise aufgeblüht. Sollten die letzteren beiden Thatsachen nicht auch zu den Ursachen gehören, welchen die ersteren zu verdanken sind?

Allerdings wird der gegenwärtige Mikrograph von einer nicht geringen Menge ganz überflüssiger und irrationeller Mittel und Methoden belästigt, welche zu versuchen er auf Schritt und Tritt dringend aufgefordert wird. Aber zur Zeit einer üppigen Blüthe kann man es auch dem Unkraut nicht übel nehmen, dass es zu wuchern sucht. Wir halten die Befürchtung Jener nicht für begründet, welche meinen, dass in der Menge des Technischen die Beobachtung selbst ersticken könnte. Ein Forscher, welcher mit einem grossen und vielseitigen technischen Apparat arbeitet, wird höchstens weniger publiciren als ein anderer, welcher, nach einer der Normalmethoden gedrillt, dabei an nichts weiter denken zu müssen glaubt, als an das Zeichnen und das Niederschreiben. Hier wird die Qualität für die Quantität gewiss entschädigen. Dagegen ist immer etwas Bedenkliches daran, wenn eine gewisse, genau bestimmte und in ihrer Art zu einer relativen Vollkommenheit ausgearbeitete Methode sehr in Mode kommt. Die Erfolge, welche mit derselben erzielt werden konnten, bestimmen leicht eine grössere Anzahl Forscher dazu, sich ausschliesslich mit ihr zu behelfen und die übrigen Methoden, welche das Eindringen in den Gegenstand von anderen Seiten und so eine Controlle der Resultate ermöglichen, ganz zu vernachlässigen. Die Anhänger solcher Universalmethoden verlieren meist sehr bald das Gefühl entweder davon, dass auch jenseits des mit ihrer Methode Erreichbaren noch vieles zu erforschen übrig bleibt, oder aber davon, wie weit sie mit ihrer technischen Ausrüstung in der Erkenntniss der feineren Verhältnisse überhaupt gehen können und wo jene aufhört, rationell anwendbar zu sein.

Da haben wir zum Beispiel die Universalmethode der Paraffinbänder: sie ist leider nicht mehr blos Normalmethode. An und für sich und in ihren Schranken ist sie eine der grössten Errungenschaften der modernen mikroskopischen Technik. Aber warum jedes Object, ob gross, ob klein, nach Flemming in Chromosmiumessigsäure fixiren? Flemming selbst war ja am weitesten davon entfernt, in seinem Gemisch eine Panacee für jedes Uebel geben zu wollen.

Warum alles unter die Wasserleitung stellen? Manche Fixirungsmittel kann man in Wasser beinahe gar nicht auswaschen, wogegen sie, wird das gehörig fixirte Object sofort in stärksten Alkohol gelegt, sich sehr leicht entfernen lassen, oft aber gar nicht eher, als aus den Schnitten entfernt zu werden brauchen. Warum immer nur in Paraffin einschmelzen und hauptsächlich warum immer mit quergestelltem Messer schneiden? Bei vielen Objecten stösst das Schneiden in Paraffin und mit dem „Quermesser" auf beinahe unüberwindliche Schwierigkeiten, wogegen in Celloidin und mit dem „schrägen Messer" dieselben Objecte sehr leicht in genügend feine Schnitte zerlegt werden können.

Da haben wir weiter die von Golgi erfundene und hauptsächlich von Ramón y Cajal weiter entwickelte (?) Chromsilbermethode. Es ist bewiesen, dass nicht alles, was sich schwärzt, nervöser Natur, Nerv oder Nervenzelle ist; und da die feinere Structur der einzelnen Elemente ganz verborgen wird, so können wir nicht immer sicher sein, ein zuverlässiges Kriterium zur Entscheidung davon, ob etwas nervös ist oder nicht, gefunden zu haben. Es ist sogar fraglich, ob sich bei der Golgi'schen Schwarzfärbung das leitende Element überhaupt färbt. Wir sind davon überzeugt, dass das leitende Element an den Punkten, wo die Schwärzung nicht mehr eintritt, noch keineswegs aufhört. — Warum bedient man sich des Vergoldens nur noch bei Muskeln? Die Goldmethode ist sehr verbesserungsfähig; sie giebt namentlich auch an dünnen Schnittserien, wie ich es aus eigener Erfahrung behaupten kann, ganz wunderschöne Bilder, welche unvergleichlich mehr feine Einzelheiten in den leitenden Bahnen und den Ganglienzellen sowohl, als auch in den innervirten Elementen zeigen, als die verhältnissmässig rohen Golgi'schen Producte.

Gegen die nur auf Paraffinbänder gegründete Histologie — einer solchen Embryologie, insofern sie vorerst blos die mikrotopographischen Verhältnisse studiert, kann man noch verzeihen — haben sich bereits seit einigen Jahren mehrere Stimmen erhoben. Auch gegen die Neurologie, welche beinahe ausschliesslich „in Golgi reist", wird sich hoffentlich bald eine lebhafte Reaction geltend machen. Gewiss wird es auch Anderen etwas befremdend erscheinen, dass man eine ganze neue Nervenlehre blos auf Grund von Chromsilberbefunden — ohne jede Controlle mit anderen Methoden, ausgenommen etwa die angeblich vitale Methylenblaufärbung — aufgebaut hat. Es ist nicht zu leugnen, dass die Methode dazu geeignet ist, überraschende Verhältnisse mit grosser Klarheit zu demonstriren, aber nur in Betreff

des Topographischen: des Verlaufes und der Verbindungen der leitenden Bahnen; völlig im Dunklen lässt sie uns aber in Hinsicht des eigentlich Leitenden, von wo es kommt und bis wohin es geht. Denn, wie gesagt, ist es keineswegs erwiesen, dass die Enden der Schwärzung in den Bahnen auch die Enden der leitenden Substanz bedeuten.

Die hauptsächliche Ursache der technischen Einseitigkeit, welche bei vielen Forschern dem Umstande, dass gewisse Methoden sehr in Mode kommen, zu folgen pflegt, sehen wir darin, das man nicht genau weiss oder wenigstens nicht daran denkt, was eigentlich mit dem Object bei Anwendung der Methode geschieht. Da man nicht genau weiss, was die Methode zu leisten vermag, so glaubt man, sie kann alles. Die Modemethoden verursachen in dieser Weise immer ein gewisses Sinken des allgemeinen Niveaus der mikroskopischen Technik, welches glücklicherweise nicht lange zu dauern pflegt.

Aehnliches wird kaum mehr zu befürchten sein, sobald die mikroskopische Methodologie zu einer wirklichen Wissenschaft geworden ist. Bisher sind aus dem Gewirr des veröffentlichten Herumprobirens jene allgemeinen Gesetze noch nicht herausgewickelt, welche in der mikroskopischen Technik als sichere Richtschnur dienen könnten und welche kein Forscher mehr entgleiten lassen sollte. An Einzelarbeiten, welche sich mit der Theorie dieses oder jenes Capitels unserer Technik beschäftigen, fehlt es nicht mehr; leider sind die Resultate nur zu widersprechend, hauptsächlich weil die Bemühungen meist auch hierin nicht von höheren, allgemeinen Gesichtspunkten geleitet wurden. Auch wird nicht Jedermann, der etwas tiefer in den modernen Geist der mikroskopischen Methodologie eindringen will, in der Lage sein, jene zerstreuten Angaben zusammenzusuchen. Diesem Bedürfnisse soll ein zusammenfassendes Werk, welches den gegenwärtigen Stand unserer Technik kritisch beleuchtet, entgegenkommen.

Vorliegendes Werk will sowohl dem Anfänger, als auch dem selbständigen Forscher dienen. Den Anfänger soll es mit den technischen Vorbedingungen einer richtigen mikroskopischen Untersuchung vertraut machen und ihn zum Verständniss der empirischen Recepte führen, welche er aus seinen Lehr- und Handbüchern kennen, aber nicht beurtheilen gelernt hat. Hauptsächlich soll es aber dem geübten Mikroskopiker behülflich sein, welcher, anstatt blos weiter zu probiren, zur Verbesserung unserer Technik rationelle Experimente anstellen will.

Kleinere Taschenbücher und Leitfäden[1] welche für die allerersten Anfänge bestimmt sind, können solche Ziele natürlich nicht verfolgen. In den grösseren histologischen Handbüchern bezieht sich

---

[1]) Solche sind z. B. die von BÖHM und OPPEL [1 und 2], BÖHM und DAVIDOFF [1], BEHRENS, KOSSEL und SCHIEFFERDECKER [1, Bd. I], STÖHR [1], STIRLING [1], SCHÄFER [1 und 2], FRIEDLÄNDER [2], BIZZOZERO [3] (besonders für klinische Zwecke), RAMÓN Y CAJAL [1], ORTH [1], KAHLDEN [1] (nur im pathologisch-histologischen Practicum brauchbar), ISRAEL [1] (ebenfalls für die pathologische Histologie), CORNEVIN [1], G. E. DAVIS [1], FEARNLEY [1] und RENAUT [1], welche in ihrer Art sämmtlich ganz gute Dienste leisten können, jedoch blos die Wirbelthiere oder gar nur den Menschen (BIZZOZERO, KAHLDEN, ISRAEL) berücksichtigen. WHITMAN [2] (ein unveränderter Abdruck von [1] aus 1885 und daher bereits vollkommen veraltet und kaum noch zu brauchen), GARBINI [1], CARNOY [1] und RAWITZ [1] beschäftigen sich auch mit der Behandlung wirbelloser Thiere und wollen auch dem Zoologen dienen. Hauptsächlich für den angehenden Zoologen bestimmt sind die etwas älteren (in den achtziger Jahren erschienenen) und schon deshalb weniger brauchbaren ganz elementaren Leitfäden von CHUN [1], KÜKENTHAL [1] und BRAUN [1], welche gerade dem Anfänger, dem ausführlichere Instructionen als dem Geübteren nothwendig sind, am wenigsten nützlich sein dürften. Aehnliche Werkchen neueren Datums sind die von BONNET [1], SQUIRE [1], CARAZZI [1] und VÁNGEL [1]. — Die früher so verbreiteten Lehrbücher von BEALE [2], FREY [4], VOGEL [2], HOGG [2], CARPENTER [2] und VAN HEURCK [1] sind in ihren letzten Auflagen keineswegs das, was sie in ihren ersten für die damalige Zeit gewesen sind. So könnten wir heute Niemanden empfehlen, die Mikrotechnik z. B. aus BEALE oder FREY zu lernen (s. auch weiter unten S. 11 und 12). Auch die neue Bearbeitung des Mikroskops von THANHOFFER [2] (erster Theil eines grösseren histologischen Handbuches in ungarischer Sprache) entspricht den Anforderungen der modernen Mikrographie keineswegs; die bescheidenere erste Auflage [1] hat den ersten achtziger Jahren wohl bessere Dienste geleistet. Nicht als ob THANHOFFER die neueren Methoden überhaupt nicht berücksichtigte, wie BEALE und FREY; er führt eine grosse Anzahl von ihnen an, aber in einer Weise, dass der Leser an manchen Stellen zur Ueberzeugung kommt, dass der Verfasser das, was er niederschreibt, selbst am wenigsten verstanden hat. Es ist ganz unmöglich nach den meisten Vorschriften, wie sie bei ihm stehen, brauchbare Präparate zu erhalten. Sie sind entweder falsch oder ungenügend. Dagegen ist und bleibt das Tabellenbüchlein von BEHRENS [1] trotz einiger Irrthümer für jeden Mikrographen ein angenehmer Gedächtnissentlaster. — Wir kennen noch folgende, seit den achtziger Jahren erschienene kleinere Werke, welche sich, zum Theil allerdings sehr oberflächlich, geistlos compilirend, mit der thierischen Mikrotechnik beschäftigen: ARLOING [1], BONNEVAL [1], COLMAN [1], COUVREUR [1], CROWTHER [1], DAVIES, F. [1], DAVIES, THOMAS [1], DUBIEF [1], DUVAL [1], ELLENBERGER [1], ERMENGEN, VAN [1], ÉTERNOD [1], FABRE-DOMERGUE [1], FRANCOTTE [1], GAGE [1 und 2], GILTAY [1], HAUSHOFER [1], HUBER und BECKER [1], JAMES, F. L.

die Technik, insofern sie überhaupt geschildert wird[1], eigentlich blos auf eine bestimmte Gruppe von Lebewesen, nämlich auf die Wirbelthiere; dabei konnte dem allgemein Gültigen nur eine sehr oberflächliche Behandlung zu Theil werden. Auch in Werken, welche die gesammte thierische Morphologie in Betracht ziehen wollen, wird ein grosses Stück von dem sogenannten speciellen Theil in Anspruch genommen, wo sich mehr oder weniger genaue Angaben darüber befinden, wie einzelne Forscher in ihren Specialarbeiten bei den verschiedenen Thierklassen verfahren. Einen praktischen Werth haben solche Zusammenstellungen kaum; sie wären nur dann nützlich, wenn sie als Wegweiser in der praktischen Aneignung der betreffenden Abschnitte der thierischen Morphologie dienen könnten: dafür sind sie aber, besonders was die wirbellosen Thiere betrifft, zu mager gehalten[2]. Viel gescheidter wird man dadurch nicht, wenn man, als einzige Angabe über die embryologischen Methoden bei den Ringelwürmern, liest, dass Lumbricus mit dem Kleinenberg'schen Liquor fixirt und mit dem Hä-

---

[1], Latteux [2], de Magalhães [1], Manton [1], Mergier [1], Miller [1], Purser [1], Remy, Ch. [1], Schweiger-Lerchenfeld [1], Trutat [1]. — Auf einige von diesen werden wir gelegentlich noch zurückkommen.

1) Wie z. B. bei Stricker [1] (für uns von hohem Interesse in Betreff der Geschichte der Mikrotechnik), Beauregard und Galippe [1], Ranvier [2b] (äusserst conservativ in der Technik, welche grösstentheils noch das Gepräge der siebziger Jahre trägt, enthält aber eine grosse Anzahl feiner Kunstgriffe des Autors, welche noch nichts von ihrem Werth verloren haben), Kölliker [2] (die sonst sehr werthvollen technischen Angaben sind leider äusserst sparsam eingestreut), Schiefferdecker und Kossel [1] (II. Bd. von Behrens, Kossel und Schiefferdecker [1]: enthält eine meist ganz rationelle, aber nicht sehr vielseitige Technik), Thanhoffer [2] (II. Bd: zum grössten Theil eine kritiklose und unübersichtliche Compilation, an Plagium grenzend, aus Frey [4], Ranvier [2b] und Schiefferdecker-Kossel [1]).

Grössere Handbücher, welche ausschliesslich der Mikrotechnik gewidmet wären, sind ausser Lee [3] noch immer nur Harting [1], Nägeli und Schwendener [2] und Dippel [1 und 2]. Für den modernen Mikrographen, wenigstens dem, der sich mit thierischen Objecten beschäftigt, sind sie aber beim eigentlichen Präpariren unbrauchbar geworden: Harting, weil die letzte Auflage in 1866 erschienen ist, Nägeli und Schwendener, weil es keine neuere Bearbeitung als die von 1877 giebt (— die englische Ausgabe von 1892 ist keine solche —) und die Autoren Botaniker gewesen sind, Dippel endlich auch aus vielen anderen Gründen. Dagegen bleibt Harting stets eine werthvolle Quelle für die Geschichte der Mikrotechnik und Nägeli und Schwendener können heute noch mit dem grössten Nutzen bei der optischen Deutung des mikroskopischen Bildes consultirt werden. Mit Dippel kann man nichts mehr anfangen.

2) Siehe hierüber das fünfte Capitel.

matoxylin desselben Autors gefärbt werden soll[1]. Mit demselben Recht hätte Sublimat und Mayer's Carmin empfohlen werden können!

Wir kennen blos zwei zusammenfassende Werke, welche sich mehr oder weniger auch mit der Kritik der angegebenen Methoden beschäftigen, nämlich die „Färberei zu mikroskopischen Zwecken“ von Gierke [**1**] und das „Microtomist's Vademecum“ von Lee [**3**] Als drittes Werk dieser Art würden wir hier das von Fol [**2**] erwähnen, wenn es nicht bereits sehr veraltet und blos mit der grössten Kritik zu brauchen wäre.

Das Werk von Gierke behandelt, seinem Zwecke entsprechend, blos die Färbungen eingehend; andere Gebiete der Technik werden blos hie und da berührt. Ausserdem ist das Werk von Gierke, welches bereits vergriffen ist, in vieler Hinsicht ebenfalls schon veraltet. Die mit vieler Sorgfalt zusammengetragen Angaben von historischem Interesse werden natürlich auch in unserem Buche verwerthet.

Das Compendium von Lee hat sich aus seinen ersten Anfängen, der ersten Ausgabe des Vademecum, [**1**] sehr schön herausentwickelt. Damals war sie eine beinahe geistlose Compilation der technischen Angaben, ein Nachschlagebuch, welches, wie Behrens von der französischen Ausgabe (von Lee und Henneguy) in einem Referat ganz richtig bemerkt, weit praktischer wie ein Lexikon hätte eingerichtet werden können[2]. In der dritten (letzten) Ausgabe [**3**] ist die Kritik mehr in den Vordergrund getreten, wogegen veraltete Formeln entweder ganz weggelassen oder wenigstens zurückgestellt wurden. Dadurch hat jedoch das Buch seine frühere Vollständigkeit eingebüsst, obwohl die Ursachen auch heute nicht ihre Kraft verloren haben, welche Lee bei der ersten Ausgabe dazu bestimmten, alles ihm Zugängliche zusammenzuhäufen. Und doch treten, trotz mancher Weglassungen, auch in der neuesten Ausgabe die rationellsten Methoden nicht gehörig hervor; noch immer erscheinen Methoden von sehr verschiedenem Werth coordinirt nebeneinander. Dem Anfänger, ja sogar dem Geübteren, wird die Wahl unter ihnen noch immer schwierig

---

1) Lee [2] p. 274. In der dritten Auflage erwähnt Lee [3] p. 321 als embryologische Methode für Lumbricus noch das Verfahren Wilson's: Fixiren in Perényi'scher Flüssigkeit, Färben in Boraxcarmin, Weiterfärben in Kleinenberg's Hämatoxylin, Einbetten in Paraffin mit sehr kurzem Paraffinbad (höchstens 10 bis 15 Minuten). Oder aber Färben, nach Auswaschen der Fixirungsflüssigkeit mit Alkohol und Wasser, mit sehr dünner Jodlösung und Einlegen in Glycerin. Beide sind Methoden, gegen welche sich so Manches einwenden lässt.

2) Cfr. Zeit. Wiss. Mikr. Bd. III, 1886, p. 487.

genug, und nutzloses Probiren noch immer nicht ausgeschlossen sein, umsomehr als wir irgend welche energischere Versuche, in das Wesen der am meisten empfohlenen Verfahren einzudringen, bei Lee noch vermissen. Immerhin müssen wir anerkennen, dass von den zusammenfassenden Werken dasjenige von Lee am weitesten in dieser Richtung vorgedrungen ist.

Auch das vorliegende Werk trachtet, aus den weiter unten noch anzugebenden Gründen, nach einer gewissen Vollständigkeit, soweit es unsere Mittel erlauben. Das Material soll aber in der Weise geordnet werden, dass die empfehlenswerthesten Methoden und ihre beste Anwendungsweise in jedem Capitel sofort aufgefunden werden können. Wer sich für den historischen Hintergrund der Technik nicht interessirt, der soll die betreffenden Theile ruhig ungelesen lassen; gewiss wird es aber Manche geben, die aus Vorschriften, welche in ihrer ursprünglichen Form längst veraltet sind, Anregung zu neuen Versuchen schöpfen werden und so die Wissenschaft, auf Grund von an und für sich Unbrauchbarem, mit werthvollen Methoden bereichern können, wie dies auch in der That schon wiederholt geschehen ist. Jedem Capitel wird eine kurze Zusammenfassung der nach unserer Ueberzeugung rationellsten und vortheilhaftesten Methoden folgen, welche dem, der sich mit der Technik nicht eingehender befassen will, wohl allein genügen dürfte.

In der mikroskopischen Technik scheint nichts selbstverständlich zu sein; oft sehen wir, dass gerade die einfachsten, man könnte meinen, selbstverständlichen Kunstgriffe auf Kosten des Resultats vernachlässigt werden. Deshalb sollen alle Methoden, welche ein allgemeineres Interesse bei den modernen Mikroskopikern beanspruchen, mit möglichster Ausführlichkeit behandelt werden, damit sie auch der Anfänger benutzen kann. Rein mechanische Manipulationen sollen jedoch nur insofern beschrieben werden, als sie zu dem Wesen einer Methode in innigerer Beziehung stehen, wie z. B. die Stellung und die Führung des Mikrotommessers beim Schneiden. Wie man ein Deckglas auflegt, wie ein Papierschächtelchen aus einem Stück zusammengefaltet wird, wie die Instrumente in Stand gehalten werden und ähnliche Dinge soll der Anfänger anderswo, am besten im Laboratorium zu lernen suchen. Nicht als ob wir solche Dinge geringschätzten; wir sind mit Beale [1] (p. 2) vollkommen einverstanden: „Niemand hat ernstliche Arbeit geleistet, bis er sich kleinlicher praktischer Einzelheiten nicht bemeistert hat“ [1]. Aber diese

[1]) „No man ever did perform real work until he had himself mastered minute practical details“.

Einzelheiten erscheinen schwer und erdrückend, wenn man sie in einem Buche liest, wie meisterhaft sie auch beschrieben seien, wogegen sie aus dem lebenden Beispiel des Geübteren und durch eigenes Probiren spielend erlernt werden können. Besonders hier geht Probiren über Studiren. Jene classischen Regeln sind zum grossen Theil nur dazu gut, um nicht eingehalten zu werden. Es fällt mir nie ein, ein Deckglas in der Weise aufzulegen, wie es in den technischen Büchern vorgeschrieben ist. (Beale [**1**] Figur 142 Taf. XII, Frey [**4**] Figur 102 p. 156, dasselbe Cliché wie bei Beale.) Jedermann muss sich durch Uebung und Reflexion in vieler Hinsicht eine eigene persönliche Technik ausbilden. Sollte jedoch dieses Werk einem solchen Autodidakten in die Hände kommen, welcher die manuelle Fertigkeit in der mikroskopischen Technik aus Büchern erlernen will, so können wir ihn noch immer am besten auf den classischen Beale [**1**] oder [**2**] verweisen, ausgenommen für die eigentliche Mikrotomtechnik, welche zur Zeit seiner früheren, noch auf der Höhe der jeweiligen mikroskopischen Technik stehenden Ausgaben noch gar nicht existirte, aber auch in der letzten, nicht mehr auf der richtigen Höhe stehenden Auflage [**2**] beinahe gar nicht behandelt ist[1]. Für diesen Theil der Technik giebt es kein Buch, welches das Manuelle mit jener Ausführlichkeit, wie der alte Beale sein Material, behandelte. Die ausführlichsten sind in dieser Beziehung noch das Vademecum von Lee [**3**], das ‚Mikroskop' von Behrens, Kossel und Schiefferdecker [**1**] (der betreffende Theil von Schiefferdecker bearbeitet) und die ‚Outlines of practical Histology' von Stirling [**1**].

---

[1]) Die angeblich durchaus revidirte und stark vermehrte Auflage von 1880 [**2**] widmet für die Einbettungsverfahren nicht mehr als eine halbe Seite (p. 93) und sagt auch für die damalige Zeit mehr Falsches als Richtiges. Dagegen behandelt sie die Gefriermethode Pritchard's ziemlich eingehend (p. 94-95). Von den Mikrotomen des Continents (von Rivet-Leiser, von Jung etc.) weiss sie nichts, obwohl diese die englischen damals schon weit übertrafen. Von den Tinctionsmethoden kennt sie blos diejenigen, welche bereits zu Ende der sechziger Jahre bekannt waren. An die Spitze derselben wird natürlich das Beale'sche Carmin gestellt. Die Grenacher-schen Carmine, das Pikrocarmin, Kleinenberg's Hämatoxylin, die Pikrinsäure, Eosin, Bismarckbraun, Safranin u. s. w. finden keine Erwähnung. — Die Vermehrung bezieht sich blos auf die Erwähnung von Methoden, welche schon in die Auflage von 1868 hätten aufgenommen werden können (wie das Einschliessen von nicht auszutrocknenden Geweben in Canadabalsam nach Durchtränkung mit Nelkenöl oder anderen ätherischen Oelen), oder aber auf Dinge, welche uns hier nicht interessiren, so z. B. auf die Untersuchung von Mineralien, auf Glasschleiferei, Photographie etc.

Das seiner Zeit mit Recht beliebte Buch von Frey (Das Mikroskop etc.) ist ebenso wie mehrere andere berühmte Werke über Mikrotechnik aus den sechziger Jahren (cfr. die Anmerkung zu Seite 7) wohl in neueren Auflagen, aber keineswegs in moderner Gestalt erschienen. Es befindet sich, was die eigentliche Technik betrifft, noch immer dort, wo es zu Anfang der siebenziger Jahre gewesen ist (vergl. die achte Auflage von 1886 und die fünfte von 1873). Wir können den Anfänger z. B. nicht genug davor warnen mit feinen Schnitten in der Weise zu verfahren, wie es Frey empfiehlt[1].

Auch die bereits bekannten und verbreiteten Instrumente, welche bei der Vorbereitung des Objectes zur mikroskopischen Untersuchung in Anwendung kommen, werden hier nicht beschrieben und behandelt. Eine Ausnahme soll auch in dieser Beziehung nur das Mikrotommesser bilden. Die beste, durch schöne Abbildungen illustrirte zusammenfassende Beschreibung der modernen Instrumente des Mikroskopikers, welche wir kennen, befindet sich in dem erwähnten Lehrbuch von Behrens, Kossel und Schiefferdecker, und zwar vom letzteren der drei Autoren bearbeitet.

Nur noch einige Worte über die allgemeinen Gesichtspunkte, nach welchen der Stoff in den einzelnen Capiteln dieses Buches angeordnet werden soll!

Als Richtschnur diene uns vor Allem das scheinbare Paradoxon, dass nicht das die beste Methode ist, wonach gegenwärtig am bequemsten gearbeitet werden kann, sondern welche im höchsten Grade verbesserungsfähig ist. Der Werth einer Methode hängt in erster Linie davon ab, im welchem Grade sie uns dazu befähigt, in die natürliche Beschaffenheit unseres Objectes einzudringen, mit welcher Sicherheit Schlüsse aus dem mikroskopischen Bild auf das Lebende zu ziehen sind. Diese Sicherheit ist nun heute noch in den meisten Fällen ziemlich gering; wir kennen aber manche Methoden, welche, besser ausgearbeitet und tiefer ergründet, uns in dieser Hinsicht zugrossen Hoff-

---

[1]) „Noch einen kleinen Kunstgriff möchten wir hier erwähnen." — sagt Frey in der Auflage von 1886, auf Seite 147, beinahe Wort für Wort so, wie in der von 1863 (Seite 143) — „Sehr dünne und zarte Schnitte lässt man am besten auf dem Filter" — sie werden mit dem Alkohol absolutus auf einen Filter gegossen — „hinreichend trocknen. Man schneidet dann das Stückchen Filtrirpapier mit dem Objecte darauf heraus, und taucht es nun in Terpentinöl ein. Man wird es dann durch eine schwache Bewegung des Papierstückchens in letzterem leicht abspülen". Ja hat denn Frey nie Spatel zum Uebertragen der Schnitte benutzt?! Erwähnt wird es in dem Buch mit keinem Wort.

nungen berechtigen. Wir schätzen sie also nicht so sehr nach ihrer Gegenwart, als vielmehr nach ihrer Zukunft, welche sie zu hoffen haben.

Um diese Zukunft beurtheilen zu können, müssen wir stets folgende Momente in Betracht ziehen:

1. Den Zweck jeder einzelnen Methode, ihre Berechtigung, insofern sie zu ermitteln ist. Hat sie keine, so wird sie sofort in den Hintergrund gestellt und muss sich mit der einfachen Erwähnung begnügen. Wir werden bei dieser Gelegenheit danach trachten, das ideale Resultat des betreffenden Verfahrens dem Leser vorzumalen.

2. Die Geschichte der Methode: die Schilderung der verschiedenen Phasen, durch welche sie sich bis heute entwickelt hat, oder wie und warum sie in die Rumpelkammer der Technik geschoben wurde. Dabei sollen sämmtliche uns bekannt gewordene Forscher und Schriften, welche sich auf die Methode beziehen, kurze Erwähnung finden. Die so gewonnene Kenntniss der Vergangenheit des Verfahrens wird möglicherweise Einfluss auf seine Zukunft haben.

3. Den gegenwärtigen Stand der Methode: die Beschreibung der Art und Weise, wie sie in den wissenschaftlichen Arbeiten der letzten Jahre in Anwendung gekommen ist, oder wie sie nach unserer eigenen Erfahrung am besten ausgeführt werden kann. Hauptsächlich diese Paragraphen sind für den Anfänger und für jeden, der nicht tiefer in den Gegenstand eindringen will, bestimmt.

4. Die Analyse der Methode in Betreff ihrer Mittel: die bei ihr in Wirkung tretenden chemischen und physikalischen Agentien gegenüber den chemischen und physikalischen Eigenschaften des zu behandelnden Objectes. (Genaue Beschreibung der angewandten Mittel und Producte.)

5. Die Analyse der Methode in Betreff ihrer Wirkung auf das Object: Veränderungen in dem natürlichen Zustand des Objectes, welches zum Präparate wird, auf den einzelnen Stufen dieser Umgestaltung. Gehen die Veränderungen nach einem bestimmten Gesetz vor sich oder sind sie wenigstens genau zu ermitteln und zu controlliren? Die Frage nach der Möglickeit von zuverlässigen Schlüssen aus den Eigenschaften des Präparates auf die des Lebenden: ob die Veränderungen wirkliche mikrochemische oder constante mikrophysikalische (mikromorphologische[1]) Reactionen sind?

---

[1]) Harting nennt die Prüfungsmittel, bei deren Anwendung gewisse Einflüsse auf die Form und Sichtbarkeit der Elementartheile ausgeübt werden, morphologische Reagentien (II. Bd. p. 219, § 106). Ich kann also die eingetretenen Formveränderungen mikromorphologische Reactionen nennen

6. Die eigentliche Kritik der Methode, auf die vorhergehenden Momente gegründet. Bilanz zwischen den gegenwärtigen Vortheilen und Nachtheilen im Vergleich mit anderen, uns bis jetzt zu Gebote stehenden entsprechenden Methoden.

7. Die Erwägung der Verbesserungsfähigkeit des betreffenden Verfahrens: wie die vorhandenen Vortheile vergrössert oder besser ausgenützt, die Nachtheile verkleinert oder beseitigt, Schwierigkeiten der Anwendung überwunden werden könnten. Kurzer Hinweis auf die Richtungen, in welchen weitere Versuche anzustellen wären, gelegentliche Skizzirung eines solchen.

Die meisten in der mikroskopischen Technik bisher angewandten Mittel und Verfahren sollen nach Möglichkeit in dieser Weise, mit Berücksichtigung von Vergangenheit, Gegenwart und Zukunft derselben, behandelt werden; nur bei den weniger wichtigen soll, der Kürze wegen, eine Abweichung von diesem Plan, eine Vereinfachung der Behandlungsweise gestattet sein.

Das ganze vorliegende Werk zerfällt in zwei Hauptheile: den allgemeinen und den speciellen Theil.

Der allgemeine Theil enthält drei Abschnitte (I-III) mit den nothwendigsten Vorbegriffen der Mikrotechnik, mit einem Ueberblick über die Entwickelung der Mikrotechnik und allgemeinen Rathschlägen für den Anfänger.

Dem speciellen Theil folgt ein Anhang: schematischer Ueberblick, welcher nebst einer kurzen, auf den früheren Erörterungen beruhenden Kritik der gegenwärtigen Mikrotechnik die Schilderung der zukünftigen, wie wir sie als wahrscheinlich und wünschenswerth erachten, enthält, hauptsächlich aber die Quintessenz der in diesem Werke gemachten Vorschläge bietet und so auch als das kürzeste Taschenbuch und Repetitorium der Mikrotechnik dienen kann.

Der specielle Theil zerfällt in elf Abschnitte (von IV-XIV).

Abschnitt IV (der erste des speciellen Theiles) behandelt drei wichtige Capitel, welche hier besonders erwähnt werden sollen:

A. Untersuchung lebender Organismen und Gewebe.

B. Untersuchung des Absterbenden (necrobiotische Beobachtung) und des Abgestorbenen (postmortale Beobachtung).

---

und die uns hier interessirenden als passive (meist postmortale) jenen morphologischen Reactionen gegenüber stellen, mit welchen der lebende Organismus — ob einzelne Zelle oder vielzelliges Thier resp. Pflanze — auf äussere Einflüsse — ob künstliche oder natürliche — reagirt; letztere sind, als Formveränderungen des Lebewesens, active (vitale) morphologische Reactionen.

C. Untersuchung der künstlich, aber ohne äussere chemische Einwirkung abgetödteten Organismen und Gewebe.

Die weiteren Abschnitte des speciellen Theils behandeln folgende Gegenstände:

V. Abtödten und Fixiren.

VI. Conserviren für spätere weitere mikrotechnische Verarbeitung (im Gegensatz zum Conserviren für makroskopische Untersuchung und Zergliederung). Sammeln (Sedimentiren) kleiner Organismen oder Gewebsbestandtheile nach dem Fixiren.

VII. Zerlegen in mikroskopisch untersuchbare Bestandtheile durch Zerstückeln, Hacken, Zupfen, Dehnen, Ausspannen, Plattdrücken und Quetschen nach vorhergegangener Fixirung. Auspinseln und Ausschwemmen. Maceriren.

VIII. Vorbereitungen, um das Object schnittfähig zu machen: Härten, resp. Erweichen, namentlich Entkalken, Entkieseln etc. Entwässern.

IX. Weitere Vorbereitungen zum Schneiden: Anwendung der Vermittelungsmedien oder Vormedien der Einbettung (Gangbarmachung des Objectes für die Einbettungsmasse: das fälschlich so genannte Aufhellen), Einbetten (Durchtränken mit der Masse, Einschliessen oder Einklemmen in dieselbe).

X. Schneidetechnik: Schneiden; Sichern der Schnitte gegen Beschädigung beim weiteren Verfahren. Serien.

XI. Vermehrung der Auffälligkeit von mikroskopischen Bestandtheilen und Verhältnissen durch Injection (eigentliche Injection, Auto-Injection, Imprägnirung).

XII. Tinction: um die mikroskopische Erkennung zu erleichtern, um Mikroreactionen zu bekommen, um das mikroskopische Bild von den fälschenden Einflüssen der natürlichen Lichtbrechungsdifferenzen zu befreien.

XIII. Vorbereitungen zum Einschliessen des Präparates: Vermehrung der Durchsichtigkeit durch Aufhellen; durch Entziehen von Farbstoff (Entpigmentiren). Anwendung der Vermittlungsmedien (Vormedien) vor dem Einschluss.

XIV. Einschluss: um das Präparat sofort zu beobachten; um es für spätere Untersuchung nach beliebiger Zeit haltbar zu machen. Zweck der Präparate; ihr Schicksal. Sammlungen.

Erster Abschnitt.
Allgemeine Vorbegriffe.

Erstes Capitel.
Ursachen und Zwecke der Vorbehandlung des Objectes für mikroskopische Untersuchungen.

§ 1.
Zweck und Ursache der Anwendung des Mikroskops in biologischen Untersuchungen.

Das Mikroskop hat uns sehr bald nach seiner Entdeckung mit der Erkenntniss davon beschenkt, dass es auch im Reiche der Lebewesen, und sogar besonders hier, eine ganze, in der Richtung des Kleinen unendlich ausgedehnte Welt jenseits des mit unbewaffnetem Auge Sichtbaren giebt. Einerseits wurden selbständig lebende Pflanzen und Thiere entdeckt, welche nur mit dem Mikroskop, d. h. vergrössert, genau untersucht oder überhaupt wahrgenommen werden können; andrerseits wurde erkannt, dass auch der Körper makroskopischer, d. h. schon unvergrössert sichtbarer Lebewesen eine unerschöpfliche Fülle feinerer Structurverhältnisse beherbergt, welche sich blos vor dem Mikroskope enthüllen. Aber nicht nur die wissenschaftliche Neugierde, vorher noch nicht Gesehenes zu entdecken und Unbekanntes zu enträthseln, hiess die gelehrte Welt, nebst vielen Dilettanten, zu dem Mikroskop greifen. Eine viel höhere Bedeutung als zur Zeit ihrer Anfänge gewann die mikroskopische Untersuchung dadurch, dass bereits zu Ende des vorigen, hauptsächlich aber in der ersten Hälfte des jetzigen Jahrhunderts die Ueberzeugung laut wurde, dass der makroskopische Bau der Lebewesen sowohl, als auch die embryologische Entstehung desselben und die physiologische Bedeutung seiner einzelnen Theile blos auf Grund der Kenntniss jener mikroskopischen Elemente zu verstehen sei, welche man seit SCHLEIDEN, SCHWANN und OKEN allgemein mit dem Namen Zelle bezeichnete. Auch erkannte bereits OKEN, allerdings blos auf Grund theoretischer Erwägungen, dass zwischen den selbständig lebenden mikroskopischen Thierchen und den

mikroskopischen Bestandtheilen der höheren Thiere eine sehr nahe Analogie existire. Er kam zu den Sätzen, dass der Anfang alles Organischen Bläschen seien; befinden sich diese vereinzelt, ganz im Wasser, so stellen sie Infusorien vor, und aus solchen Infusorien, als ihren Bestandtheilen, bestehen alle Thiere[1]. Somit wurde der Schwerpunkt der biologischen Wissenschaften in das Studium mikroskopischer Bestandtheile und Verhältnisse verlegt; die mikroskopische Untersuchung wurde zur hauptsächlichsten Quelle unserer Kenntnisse auf dem Gebiete des Lebens.

Die Lebeswesen sind jedoch nicht so ohne Weiteres zur mikroskopischen Untersuchung geeignet. Sie müssen bald eine einfachere, bald eine sehr verwickelte Procedur durchlaufen und werden erst dadurch zum mikroskopischen Präparat. Unter dem Begriff mikroskopisches Präparat verstehen wir also in der Biologie Lebewesen oder Theile resp. Producte von solchen in einem Zustande, in welchem sie zur Untersuchung mit dem Mikroskop ohne Weiteres geeignet sind.

Nicht jedes Präparat ist aber zu allerlei Untersuchungen mit dem Mikroskop geeignet. Manche in ihrer Art doch vollkommenen Präparate gestatten blos eine geringere Vergrösserung, wogegen von anderen die allerstärksten Vergrösserungen, welche unsere Mikroskope nur erlauben, zu gewinnen sind. Je geringer die Vergrösserung, welche erstrebt ist, um so einfacher kann im Allgemeinen auch die Procedur sein, welche das Object zum Präparat macht. Da nun die Vergrösserungen, welche zur Zeit der Anfänge solcher Untersuchungen dem Forscher zu Gebote standen, im Vergleich mit

---

[1]) Oken, L., Allgemeine Naturgeschichte für alle Stände. 13 Bde. 8⁰. Stuttgart (Hoffmann'sche Verlh.) 1833-1841. Thierreich im Bd. IV (1833) bis VII (1838). Auf Seite 150 von Bd. IV (Thierreich, erster Band) steht Folgendes: „Die Grundmasse aller Pflanzen- und Thiersubstanzen besteht aus weichen Bläschen, dort schleimig, hier mehr gallert- oder eiweissartig. Die niedersten Pflanzen, wie die Pilze, die man Rost nennt, sowie die Wasserfäden oder vielmehr Wassergallerten (Nostoc), sind nichts anderes als solche Bläschen, welche bald einzeln, bald zusammengewachsen vorkommen. Das Zellgewebe der Pflanzen ist daher nichts anderes als ein Haufen von Urpflanzen. Dieselbe Bedeutung hat das Zellgewebe des Thiers. Wir finden nämlich, dass die niedersten Infusorien nichts anderes als Gallert- oder Eiweissbläschen sind, von den Pflanzenbläschen nur durch einen Mund unterschieden. Das thierische Zellgewebe ist mithin nur ein Haufen von Infusorien und die Bedeutung der thierischen Grundmasse ist keine andere, als die Verwachsung von Millionen Infusionsthierchen".

dem heute Möglichen ziemlich gering waren, so sind auch die nöthigen Vorbereitungen damals viel einfacher gewesen.

Die allmähliche Vervollkommnung des Mikroskopes hat uns, was das Optische betrifft, in die Lage versetzt, auch mit sehr starken Vergrösserungen zu untersuchen. Damit war aber nur die eine Hälfte des Problems gelöst. Die andere Hälfte besteht darin, auch geeignete Präparate zu einer solchen Untersuchung aus dem Objecte herzustellen; und die Schwierigkeit dieser Hälfte ist, wie gesagt, um so grösser, je stärker die Vergrösserung, bei welcher die Untersuchung noch ermöglicht werden soll. Andererseits wächst damit wieder auch die Schwierigkeit, sich auf Grund des Präparates ein richtiges Bild vom Lebenden zu verschaffen. Der Beobachter ist hierbei in sehr vieler Hinsicht Täuschungen ausgesetzt. Damit das Präparat, welches die starke Vergrösserung zulässt und eigentlich immer nur Kunstproducte enthält, die nicht direct auf das Lebende bezogen werden können, möglichst wenig Veranlassung zu Täuschungen gebe, muss die Vorbehandlung des Objectes ausserdem, dass sie verwickelter ist, noch ganz besonders sorgfältig und durchdacht sein.

Die Anwendung starker Vergrösserungen und geeignete Vorbehandlung haben uns jede einzelne Zelle zu einer wahren Fundgrube interessanter Structurverhältnisse gemacht. Jeder Schritt in der Vervollkommnung des Mikroskops hat unsern Blick verschärft, um weiter in die Welt der kleinsten Dinge hineinzudringen; aber erkennbar hat diese Dinge nur die fortschreitende Kunst, Präparate aus dem Object zu verfertigen, gemacht.

§ 2.

Die natürliche Beschaffenheit der Lebewesen als Hinderniss ihrer mikroskopischen Beobachtung. Grösse und optische Beschaffenheit im Allgemeinen.

Wie erwähnt, werden die Schwierigkeiten, welche das Object dem Beobachter in den Weg stellt, dadurch überwunden, dass er aus demselben ein oder mehr, gelegentlich eine grosse Anzahl, mikroskopische Präparate verfertigt. Das ist kein richtiger Mikroskopiker, welcher nicht ein gutes Stück seiner Arbeit diesem Kampfe geopfert hat; wer nur fremde Präparate untersucht, verdient jenen Namen nicht.

Die natürliche Beschaffenheit des Objectes macht aber nicht nur die mikroskopische Untersuchung selbst schwierig oder unmöglich sondern sie erschwert auch die Herstellung des Präparates in ver-

schiedener Weise. Zuerst wollen wir die Schwierigkeiten der Untersuchung selbst betrachten.

Einmal bestehen sie in der Grösse der zu untersuchenden Lebewesen. Diese ist ein Hinderniss der Untersuchung ohne Weiteres sowohl, wenn sie ein gewisses Maximum übersteigt, als auch dann, wenn sie sich unter einem gewissen Minimum befindet.

Die zu beträchtliche Grösse ist es einerseits, weil sie die nöthige Beleuchtung des Objectes oder die erforderliche Lichtstärke des mikroskopischen Bildes unmöglich macht, andrerseits weil das Mikroskop auf das zu Untersuchende nicht einstellbar ist, an dasselbe nicht heran kann.

Was die Beleuchtung betrifft, so können grössere Gegenstände meist noch eher bei auffallendem Licht (wenn sich die Lichtquelle über dem Object befindet) mit dem Mikroskop betrachtet werden; in dieser Weise kann jedoch entweder blos das einfache Mikroskop (die sogenannten Lupen: Lupenvergrösserungen bis zu einer im günstigsten Falle 60-70fachen) oder schwache Systeme des zusammengesetzten Anwendung finden. Eine mehr als 150- bis 200-fache Vergrösserung ist zu Untersuchungen bei auffallendem Licht praktisch nicht zu verwerthen, liesse sie das Object an und für sich auch zu; denn erstens ist das von der Oberfläche des Objectes zu dem Beobachter reflectirte Licht zu schwach, um stärkeren Vergrösserungen zu genügen; zweitens wird bei diesen die obere Beleuchtung selbst unmöglich, sobald das Objectivsystem des Mikroskopes dem Objecte so nahe gekommen ist, wie zur Erzeugung des Bildes nöthig ist, und so den Lichtstrahlen den Weg zum eingestellten Theile verweigert, ihn beschattet[1]. Die obere Beleuchtung erlaubt natürlich blos eine Orientirung über die Beschaffenheit der Oberfläche des Objectes (oder der einstellbaren inneren Theile desselben, wenn es durchsichtig ist); sie wird, je stärker die Vergrösserung, um so beschränkter, da das Gesichtsfeld nur einen um so kleineren Theil der Fläche umfassen kann.

Will das Auge auch in die Tiefe des Objectes eindringen, so ist es, schon bei nur etwas stärkeren Vergrösserungen, auf das durch-

---

[1]) Eine scheinbare obere Beleuchtung des durchsichtigen Objectes kommt dadurch zu Stande, dass in den Condensor (ABBE'schen Beleuchtungsapparat) eine Centralblendung (sternförmige Blendung, Dunkelfeldblendung) eingelegt wird (Abhalten der Axenstrahlen des vom Spiegel kommenden Lichtes); auch diese lässt aber den Beobachter schon bei mittleren Vergrösserungen meist im Stich.

fallende Licht angewiesen (das Object liegt dabei zwischen Lichtquelle und Objectivlinse). Dieses involvirt aber zunächst die Durchsichtigkeit des Objectes, und die Lebewesen sind in ihrer natürlichen Beschaffenheit verhältnissmässig selten durchsichtig, wie besonders gewisse pelagische Seethiere, welche trotz ihres gelegentlich grossen Umfanges ganz wie von Glas erscheinen. Kommen sie dem unbewaffneten Auge auch durchscheinend vor, so wird das sie durchsetzende Licht doch in einem Grade abgeschwächt, welcher mit der Länge des Weges durch das Object, also der Dicke, wächst.

Würde jedoch die Menge des Lichtes, welche das Object durchlässt und welche mit den neuesten Beleuchtungsapparaten von Abbe ganz beträchtlich vermehrt werden kann, an und für sich für eine gewisse Vergrösserung auch genügen, so ist es noch fraglich, ob sie wegen der Entfernung, in welche die Objectivlinse durch die Einstellung des Objectes von dem Condensor, resp. dem Spiegel kommt, auch verwerthbar für das mikroskopische Sehen ist.

Die Einstellung des zu untersuchenden Theiles eines Objectes ist natürlich wieder nur dann möglich, wenn seine Entfernung von der Oberfläche des letzteren in der Richtung der optischen Achse des Mikroskops geringer ist, als der sogenannte Arbeitsabstand des betreffenden Objectivsystems. Der gegenwärtig ermöglichte grösste Arbeitsabstand ist aber für stärkere Vergrösserungen noch immer so gering, dass tiefer gelegene Theile eines für geringere Vergrösserungen noch vollkommen geeigneten Objectes, nicht mehr einstellbar sind. Je grösser also die erwünschte Vergrösserung, um so geringer muss die Dimension des eingestellten Objectes in der Richtung des mikroskopischen Sehens sein. Dieser Umstand ist einer der hauptsächlichsten Factoren für die Nothwendigkeit der künstlichen Vorbereitung des Objectes zur mikroskopischen Untersuchung.

Eine beinahe ebenso grosse Schwierigkeit, wie die übermässige Grösse, stellt in den Weg der mikroskopischen Untersuchung in der entgegengesetzten Richtung die übermässige Kleinheit gewisser Lebewesen, deren genaue Kenntniss doch ungemein wichtig ist, sowohl für das Verständniss des Lebens im Allgemeinen als auch im specielleren Interesse der Menschheit (Bacterien etc.). Oft genügen nicht einmal unsere stärksten Vergrösserungen, um sie genau zu untersuchen; ja es kann sogar, trotz der heutigen Vollkommenheit der Mikroskope, schwer fallen, sie überhaupt zu sehen. Deshalb ist schon ihre Einstellung nur unter künstlichen, sehr günstigen Bedingungen möglich;

aber auch ihre natürliche optische Beschaffenheit, dass sie zu durchsichtig sind und ihre Structur zu wenig optische Differenzirung zeigt, verursacht bei ihrer Kleinheit ganz besondere Schwierigkeiten. Diese Umstände haben wieder zu einer ganz besonderen Richtung in der Kunst, mikroskopische Präparate herzustellen, Anlass gegeben.

§ 3.

Weitere Hindernisse: Activität der Lebewesen. Veränderlichkeit. Optische Eigenschaften der einzelnen Bestandtheile.

Sehr schwierig ist die Untersuchung der Lebewesen in ihrem natürlichen Zustande auch deshalb, weil das von ihnen oder ihren Bestandtheilen zu erhaltende mikroskopische Bild nicht lange genug unverändert vor unseren Augen zu liegen pflegt, um gehörig studirt und etwa durch Zeichnung oder Photographie fixirt zu werden. Diese kurze Dauer, diese Veränderlichkeit des Bildes rührt von zwei Ursachen her. Entweder ist es die Activität des Lebenden, welche sich in Bewegungen, die das Bild dem Gesichtsfelde entreissen, oder in mit der Lebensthätigkeit verknüpften Aenderungen der äusseren Form und der inneren Beschaffenheit offenbart, die so rasch vor sich gehen können, dass das Auge nicht mehr im Stande ist, aus den verschiedenen aufeinander folgenden optischen Eindrücken dem Beobachter einen klaren Begriff von den Verhältnissen zu vermitteln. Die zweite Ursache ist das Aufhören des Lebens während der Beobachtung und die Alteration der Beschaffenheit, welche nach dem Tode früher oder später immer eintritt und bis zur Auflösung des Lebewesens in unorganisirte Bestandtheile nicht zum Stillstande kommt. Auch diese machen es unmöglich, die Untersuchung desselben Objectes über eine gewisse Zeit auszudehnen, oder sie nach beliebiger Zeit wieder aufzunehmen. Und doch ist es von grösster Wichtigkeit, dass man einerseits die Lebewesen oder ihre Bestandtheile während des Lebens untersuche, andererseits aber in der Lage sei, dasselbe Object längere Zeit hindurch, wenigstens bis auf gewisse Punkte unverändert, wie im Zustande des Lebens zu beobachten und es auch später beliebig zu betrachten und mit anderen zu vergleichen.

Diese Probleme erfordern die Herstellung von mikroskopischen Präparaten in zwei Richtungen: entweder soll das Präparat das Leben und den natürlichen Verlauf der Lebenserscheinungen des Objectes möglichst lange erhalten, oder aber das Object soll getödtet werden, jedoch so, dass spontane Veränderungen in seiner Beschaffenheit mög-

lichst für immer verhindert bleiben. Die künstlichen Eingriffe, welche letzteres bezwecken, bilden ebenfalls einen Haupttheil der Vorbehandlung des Objectes für mikroskopische Untersuchungen.

Spontane Veränderungen sollen unmöglich gemacht, dagegen künstliche, controllirbare Aenderungen der Beschaffenheit des Lebenden in verschiedenster Weise ermöglicht werden. Diese Nothwendigkeit wird erklärt durch die dritte Gruppe der hier zu besprechenden Schwierigkeiten, welche die natürliche Beschaffenheit der Lebewesen der Untersuchung in den Weg stellt.

Wie gesagt, besitzt alles Lebende, sogar die scheinbar einfachsten einzelligen Wesen, einen mehr oder weniger, aber immer viel complicirteren Bau, als man bei den früheren Mitteln der Wissenschaft ahnen konnte. Die Einzelheiten dieses Baues sind, selbst wenn das Object in jeder der oben schon erwähnten Beziehungen der Beobachtung zugänglich wäre, so wie sie sich von selbst darbieten, für uns nur zum Theil erkennbar, da wir hier allein auf das mit den Augen Sichtbare angewiesen sind und andere Sinneseindrücke von der mikroskopischen Beschaffenheit des Objectes uns nur ganz ausnahmsweise verschaffen können. Sich optisch ganz gleich verhaltende Structurelemente können doch von sehr verschiedener Natur und sehr abweichender Bedeutung sein. Auch die in der That vorhandenen optischen Differenzen sind oft so gering, dass sie dem Beobachter vorerst vollkommen entgehen oder überhaupt nur bei Anwendung ganz besonderer Hilfsapparate zur Beleuchtung und zur Analyse der Lichtstrahlen, welche die betreffende Substanz passirt haben, wahrgenommen werden können.

Die weitere Aufgabe der Vorbehandlung der Lebewesen für mikroskopische Untersuchungen, und zwar eine ebenso wichtige und schwierige, wie die zwei bereits hervorgehobenen, ist also: die im Leben vorhandenen, aber optisch nicht ohne Weiteres oder nur schwer wahrnehmbaren Differenzen der Structurelemente, überhaupt die Einzelheiten des Baues, im mikroskopischen Bild auffällig, mithin sicher nachweisbar und auch bezüglich ihrer anderweitigen Natur erkennbar zu machen.

Ob wir nun die gehörigen Mittel zur Lösung der aufgezählten Probleme, zu welchen sich gelegentlich einige andere von geringerer Bedeutung gesellen, in der That auch besitzen, darüber soll im folgenden Paragraph die Rede sein.

§ 4.

Wie die Schwierigkeiten überwunden werden. Das Zerlegen und das Durchsichtigmachen des Objectes.

Es stehen uns bereits eine grosse Anzahl Mittel zu Gebote, um die durch die natürliche Beschaffenheit der Lebewesen bei ihrer mikroskopischen Untersuchung verursachten Schwierigkeiten zu überwinden. Die Kunst, diese richtig anzuwenden, nennen wir die mikroskopische Technik, mikromorphologische oder kürzer Mikrotechnik.

Die Methoden, welche der Beobachter bei der mikrotechnischen Bearbeitung eines Objectes zu wählen hat, hängen einerseits von der Richtung und dem specielleren Zwecke der Untersuchung, andrerseits von dem Objecte selbst ab[1]. Sie können und müssen daher sehr verschieden, bald höchst einfach, bald vielseitig und complicirt sein.

Auf jeden Fall müssen die Organismen oder die Theile eines Organismus zunächst, so weit möglich, in ihrem natürlichen Medium unter das Mikroskop gebracht werden: sind sie dazu klein genug, dann unversehrt zwischen Objectträger und Deckglas ausgebreitet, seltener unbedeckt; sind sie grösser, dann eventuell durch vorsichtigen Druck bis zur genügenden Dünne plattgedrückt, oder mit feinen Schneideinstrumenten in der Weise zerstückelt, dass das Leben der so vom Ganzen getrennten Theile, das ihnen auch bei vielzelligen Thieren oft in hohem Grade eigen ist, durch den mechanischen Ein-

---

[1]) Was ihre Zwecke anbelangt, so kann sich die Untersuchung blos auf die Formverhältnisse beschränken, auf rein morphologischem Gebiete bewegen; oder sie will die feineren Vorgänge bei den Lebensverrichtungen ermitteln, insbesondere die Art und Weise, wie sich die einzelnen Zellen an jenen betheiligen, und dann bewegt sie sich auf dem Gebiete des Physiologen. Das eigentliche Gebiet der mikroskopischen Physiologie, namentlich in der Physiologie der Zelle, ist aber heute noch sehr beschränkt und von dem der Morphologie gar nicht zu trennen. Die Mikrophysiologie, namentlich die Zellenphysiologie, befindet sich in jenem, wie Boveri sagt „kindlichen und in gewissem Sinn glücklichen Zustand", in welchem anfangs die Physiologie überhaupt gewesen ist, wo sie noch keine eigene Methode, wie heute die experimentirende, besass, sondern die Bedeutung der einzelnen Werkzeuge des Lebens im Wesentlichen blos aus constatirten morphologischen Verhältnissen erschliessen musste. (Referat über Befruchtung: in Ergebnisse der Anatomie und Entwicklungsgeschichte Bd. I, 1891, S. 393.)

So hat die Mikrophysiologie auch keine besondere Technik, sondern bedient sich der Mikrotechnik der Morphologie, obwohl gewisse Methoden von dieser für jene eine ganz besondere Bedeutung haben, so zum Beispiel die verschiedenen Methoden der Untersuchung des lebenden Objectes.

griff möglichst wenig beeinträchtigt werde. Ein roher Eingriff, welcher jedoch sehr oft einzelne Theile des Organismus eine Zeit lang lebend beobachten lässt, ist das Zerquetschen zwischen zwei Gläsern oder das Abschaben oberflächlich gelegener Gebilde mit dem Messer, Spatel etc.

Ist das natürliche Medium aus irgend einer Ursache nicht, oder nicht in gehöriger Menge zu verschaffen, was wohl seltener vorkommen wird, so kann es durch künstliche Zusammensetzung der entsprechenden Stoffe hergestellt werden; eventuell kann ein anderes, aber ähnliches das natürliche Medium ersetzen. (Künstliche Nährböden für Bacterien und andere Mikroorganismen.) Auch dafür kann gesorgt werden, dass dem Medium die Stoffe, welche der Organismus ihm für seine Lebensthätigkeit entzieht, in genau bestimmbarer Menge wieder zugeführt werden; es kann zum Beispiel unter dem Mikroskop durchlüftet werden. Ein Leichtes ist es, die Verdunstung des Mediums zu verhüten. Natürlich kann man in dieser Weise durch Zuführung fremder Stoffe, Gase oder Flüssigkeiten auch beliebig experimentiren: feuchte Kammer, Gaskammer etc. (s. weiter unten in Abschn. IV).

Die für die Zwecke des Beobachtens zu energischen Lebensthätigkeiten werden gehemmt, verlangsamt, ganz oder blos zum Theil ausgeschlossen. Zu raschen, resp. zu weiten Bewegungen wird durch Beengung des Raumes oder, falls diese nicht zum Ziele führt, durch Betäubung, Narcotisation, des Organismus abgeholfen. Erstere wird durch den Druck des Deckglases, Einsperren in eine enge Papier- oder Glaszelle, knappes Abmessen des hängenden Tropfens etc. je nach den Umständen bewirkt. Diese Methoden der Mikrotechnik gehören zum Theil zu den ältesten. Ihre genauere Beschreibung folgt in Abschnitt IV. Diese Schwierigkeiten zu beseitigen, gehört, soweit dieses heute überhaupt möglich ist, zu den leichtesten Manipulationen des Mikroskopikers; freilich befriedigt das, was wir in dieser Hinsicht bereits können, noch sehr wenig, weshalb die Untersuchungen selbst zu den schwierigsten gehören.

Derjenige, welcher Untersuchungen in rein morphologischer Richtung vornimmt, kann sich bei vielzelligen Lebewesen entweder schon damit begnügen, dass er den mikroskopischen Aufbau derselben aus den zelligen Elementen und aus deren Produkten ermittelt, oder er dehnt sein Studium auch auf die feinere Structur der Zellen und der Zellproducte aus, oder endlich er beschränkt sich hauptsächlich auf

das letztere und beschäftigt sich mit dem ersteren nur, insofern es zum richtigen Verständniss seines eigenen Gegenstandes unumgänglich nothwendig ist. Die Mikrotechnik des Ersteren, des Anatomen im engeren Sinne, ist im Allgemeinen viel einfacher als die des Letzteren, des Histologen, welcher mit viel grösseren Schwierigkeiten zu kämpfen hat. Der Histologe muss sein Material schon in vielfacherer Weise vorbehandeln, als der Anatom, dessen Material ebenfalls immer auch in histologisch tadellosem Zustand zum Präparat werden sollte. Besonders muss er es aber in vielfacherer Weise weiterbehandeln. Der technische Theil der mikroskopischen Arbeit des Anatomen ist im Wesentlichen bereits abgethan, wo der des Histologen erst ernstlich anfängt.

Was zuerst die durch die Grösse des Objectes verursachte Schwierigkeit betrifft, so kann diese zwar im einfachsten Falle durch Zergliedern, Abplatten oder Zerquetschen beseitigt werden, jedoch kann besonders Letzteres nie mehr als ein provisorischer Nothbehelf sein. Diese drei Methoden sind wohl die ältesten und primitivsten der Mikrotechnik; ganz entbehren kann sie jedoch auch heute kein Forscher, wenigstens muss er es versuchen, sich die erste Orientirung über die Beschaffenheit seines Objectes in dieser Weise zu verschaffen.

Was den Nutzen des Zergliederns für die mikroskopische Untersuchung speciell anbelangt, so ist es oft der Fall, dass ein Lebewesen in toto das Eindringen mit dem Mikroskop bis zu seinen Organen nicht gestattet, wogegen die Dimensionen der einzelnen, womöglich unversehrt herauspräparirten Organe eine mikroskopische Untersuchung bereits zulassen. Eine grössere Raupe ist zum Beispiel im Ganzen kein Object für mikroskopische Beobachtung, ausgenommen vielleicht die Beschaffenheit der Körperoberfläche bei schwächeren Vergrösserungen, etwa bei auffallendem Licht; dagegen lassen das herauspräparirte Nervensystem, die Malpighi'schen Gefässe etc. bereits eine sehr eingehende mikroskopische Untersuchung zu, in die Körperflüssigkeit als das natürliche Medium eingeschlossen, eine zeitlang sogar während des Weiterlebens ihrer Zellen. Sind die möglichst unversehrt herauspräparirten Theile noch immer nicht untersuchbar, so werden sie weiter zergliedert; bei blasen- oder schlauchartigen Gebilden z. B. genügt es oft sie aufzuschneiden und auszubreiten. Nur dann, wenn etwas ähnliches nicht möglich ist oder genügt, wird zum weiteren Zerstückeln, Zerzupfen, Zerschütteln oder Zerquetschen geschritten. Letztere Manipulationen geben jedoch ohne besondere Vor-

behandlung nur selten befriedigende Resultate. Und diese Vorbehandlung ist meist die Macerirung.

Wären die Dimensionen eines Objectes für sich nicht hinderlich, ist es aber undurchsichtig, opak oder stark pigmentirt, so können wir demselben sehr oft künstlich die gehörige Durchsichtigkeit verleihen, indem wir es mit einer Substanz durchtränken, welche das Licht stärker bricht, als die eigenen Körpersubstanzen, oder indem wir das Pigment entfernen, resp. verbleichen lassen. Diese Vorbereitungsmethoden stossen aber auf grosse Schwierigkeiten in der natürlichen Beschaffenheit der Lebewesen, denn diese lassen weder ein Durchsichtigmachen, das in richtiger Weise so genannte Aufhellen, noch ein Entpigmentiren ohne Weiteres zu[1]. Die Untersuchung des im Ganzen durchsichtig gemachten Objectes ist von überaus grosser Wichtigkeit insbesondere für den Anatomen und Embryologen, denn sehr oft ist es beinahe unmöglich, sich in einer anderen Weise einen richtigen Begriff von der Form und von der gegenseitigen Lage der Organe eines Lebewesens zu verschaffen; andrerseits erleichtert eine solche vorläufige Orientirung auch die spätere genauere Untersuchung, z. B. durch Schnittreihen, in hohem Grade. Auch dieser Umstand ist eine der Ursachen, weshalb die Proceduren, welche das Durchsichtigmachen des Objectes ermöglichen, eine so wichtige Rolle in der Mikrotechnik spielen.

Für eine genauere Untersuchung, namentlich mit stärkeren Vergrösserungen, genügt die Zergliederung, das Abplatten oder das Zerquetschen des Objectes noch bei weitem nicht; auch in Fällen, wo es auf den ersten Blick so erscheinen könnte, darf die grosse Hülfe unserer modernen Mikrotechnik, nämlich die Möglichkeit, aus allerlei Objecten sehr feine Schnitte herzustellen, nicht verschmäht werden. Auch wenn die Dicke der Schicht, welche man aus dem Objecte, auch ohne Schnitte zu machen, herstellen kann, das Herantreten an dasselbe mit stärkeren Vergrösserungen erlaubt, so könnten die so gewonnenen mikroskopischen Bilder vielfach doch kein richtiges Urtheil von der feineren Beschaffenheit der Elemente gewähren, weil die Schichten über und unter dem eingestellten Niveau das mikroskopische Bild stören würden. Man kann es als allgemeine Regel aufstellen, dass je stärker die erforderliche Vergrösserung ist, um so dünner die mit Vortheil untersuchbare Schicht sein muss. Je stärker aber ande-

---

[1]) Das Wort Aufhellen wird nämlich in der Mikrotechnik unrichtiger Weise vielfach auch für andere Proceduren gebraucht (s. weiter in § 5).

rerseits die Vergrösserung, um so leerer erscheint das von den elementaren Bestandtheilen eines Organismus gewonnene mikroskopische Bild, wenn dieselben blos ihre natürliche Beschaffenheit besitzen, was in der vierten oben erwähnten Gruppe der Schwierigkeiten der mikroskopischen Untersuchung der Lebewesen in ihrem natürlichen Zustand begründet ist. Je tiefer man bei Anwendung starker Vergrösserungen in die Structurfeinheiten seines Objectes eindringen will um so komplizirterer künstlicher Eingriffe bedarf es, um jene optisch hervorzurufen, sichtbar zu machen. Je mehr Einzelheiten aber endlich sichtbar sind, um so grösser ist die störende Einwirkung unter- und überliegender Schichten auf das mikroskopische Bild, um so unvermeidlicher also die grosse Dünne der Schicht, welche das Präparat enthalten darf.

Nicht selten muss sogar der Anatom zu 5 Mikra[1] dünnen und noch dünneren Schnitten seine Zuflucht nehmen, um über gewisse Verhältnisse ins Klare zu kommen. Der Histologe hat es heutzutage sehr oft mit 1 μ dünnen und noch dünneren Schnitten zu thun. Und so dünne Schichten, worin die natürliche gegenseitige Lage und Structur der Elemente doch erhalten sein soll, sind in keiner anderen Weise, als mit der Schnittmethode, zu erhalten.

§ 5.

Fixiren, Einbetten, Färben. Einschluss.

Nun ist die natürliche Beschaffenheit der Lebewesen auch für die Herstellung irgendwie genügend dünner Schnitte nicht ohne Weiteres geeignet. Die besonders zu diesem Zwecke construirten sogenannten Doppelmesser leisten bei Weitem nicht das, was sie sollten und werden heute kaum mehr benutzt. Das Object muss gehärtet werden; aber die Härtung allein genügt nur selten; es muss auch eingebettet werden. Nur dadurch erhält es die erforderliche Schnittfähigkeit, nur so kann es beim Schneiden gehörig geschont werden.

Weder die Härtung, noch besonders die Einbettung kann aber wegen der eigenthümlichen Beschaffenheit der Lebewesen an ihnen ohne Weiteres vorgenommen werden. Die Lebewesen, namentlich die Thiere, resp. ihre Organe und anderweitigen Bestandtheile, sind nämlich nicht nur meist zu weich und zu zart, obwohl gelegent-

---

[1]) Die Maasseinheit des Mikroskopikers ist der Mikromillimeter, d. h. der tausendste Theil eines Millimeters, dessen abgekürzter Name Mikron ist und mit dem griechischen μ bezeichnet wird.

lich auch zu zähe und zu hart um sich dünn schneiden zu lassen, sondern sie sind auch gegen nicht mechanische Eingriffe sehr empfindlich, und in ihrem Bau äusserst vergänglich, so dass man sie nur mit besonderen Vorsichtsmassregeln härten und nach besonderen Vorbereitungen einbetten kann. Und so sind wir zu jenen Methoden angelangt, welche zum Ueberwinden der dritten Gruppe von Schwierigkeiten dienen, die wir unter dem Ausdruck Veränderlichkeit der Lebewesen und ihrer Structuren zusammengefasst haben.

Ein Mittel, die Veränderungen wenigstens innerhalb der normalen Grenzen zu halten, ist: das Object selbst während der Untersuchung am Leben zu erhalten. Auf diese Methoden haben wir bereits hingedeutet. Den künstlichen Eingriff, welcher den Bau eines Organismus auf einem gewissen status quo erhaltbar macht während und trotz aller Proceduren, die erforderlich sind um ihn in das Präparat, womöglich in Dauerpräparate umzuwandeln, nennen wir in der Mikrotechnik Fixiren.

Das Fixiren beginnt mit dem Tödten des Objectes oder der Zellen, welche es zusammensetzen, und der Status quo bezieht sich im günstigsten stets zu erstrebenden Fall, auf das Moment unmittelbar vor dem Tode. Das Tödten des Individuums und die Fixirung seiner Bestandtheile sind jedoch keineswegs immer dasselbe. Besonders bei den vielzelligen Thieren kommt es nicht selten vor, dass man erst das ganze Individuum, und zwar mit wesentlich anderen Mitteln, tödten (gelegentlich blos betäuben) muss und erst dann zum Fixiren seiner Bestandtheile, der Zellen und deren Producte, schreiten kann. Die ideale Fixirung ist freilich die, welche das ganze Individuum und seine Zellen gleichzeitig tödtet und sich nicht blos auf die Zellen, sondern auch ebensogut auf die Zellproducte bezieht. Fixirt wird entweder durch thermische Einwirkung (Hitze) oder, was viel häufiger der Fall ist, durch chemische: meist mit Flüssigkeiten, seltener mit Gasen (Dämpfen).

Die Fixirungsmittel, deren wir eine sehr grosse Anzahl besitzen, dienen im Allgemeinen nicht dazu, um in ihnen das Object für spätere weitere Verarbeitung oder als Dauerpräparat aufzuheben, d. h. um es zu conserviren. Unter Conservirung verstehen wir das dauerhafte Erhalten des Objectes in dem Zustande, welcher ihm durch die Fixirung oder neben dieser durch weitere Proceduren verliehen wurde. Die Fixirungsmittel machen also das Object zum Conserviren geeignet, conserviren es aber in der Mehrzahl der Fälle nicht. Auch Conservirungsmittel

giebt es, obwohl nicht so zahlreiche, wie Fixirungsmittel, mehrere: die trockene Luft und mehrere Flüssigkeiten, welche jener für die meisten Fälle vorzuziehen sind. Gelegentlich ist die Flüssigkeit eine solche, welche, einmal in das Object eingeführt, zum Erstarren gebracht werden kann und zu einem festen, Luft und alles andere vollkommen ausschliessenden Körper wird[1].

Das fixirte Object kann nun gehärtet werden. Oft wird die Härtung dem Fixirungsmittel selbst überlassen. Theoretisch ist dieses nicht richtig. Die Härtung soll dem Object blos eine gegen mechanische Insulte resistentere Consistenz verleihen, dadurch die Gefahr der künstlichen Deformirung bei den weiteren Manipulationen vermindern und es besonders schnittfähiger machen. Unter Schnittfähigkeit des Objectes verstehen wir nämlich nicht nur, dass es leicht und dünn zu schneiden sei, sondern dass in den so gewonnenen Scheiben, in den Schnitten, die einzelnen Bestandtheile auch in ihrer natürlichen Lage und in der ihnen durch die Fixirung verliehenen Beschaffenheit verbleiben. Mit der Härtung dürften sich Eingriffe anderer Natur nicht verbinden.

Da jedoch eine solche ideale Härtung, zumal bei der nicht eben ganz idealen Leistungsfähigkeit unserer Messer, gegenwärtig nicht möglich ist, so spielen die Methoden der eigentlichen Härtung in der modernen Mikrotechnik eine immer geringere Rolle. Die Schnittfähigkeit in dem eben hervorgehobenen Sinn verleihen wir unserem Objecte dadurch, dass wir es einbetten. Nur wo eine richtige, moderne Einbettung aus irgend einem Grunde unausführbar ist, bekommt die Härtung eine grössere Wichtigkeit.

Die moderne Einbettung besteht nämlich in dem vollkommenen Durchtränken des Objectes mit einer Flüssigkeit, welche nachher zu einer mehr oder weniger festen, ganz gleichmässigen Masse erstarrt, die die gewünschte Schnittfähigkeit besitzt. Diese Consistenz kann entweder durch Erkaltenlassen der Masse oder durch Verdunsten ihres Lösungsmittels erreicht werden, oder aber durch Einwirkung einer anderen, dem Object nicht schädlichen Flüssigkeit (seltener Dämpfen) auf die Einbettungsmasse, eventuell mit der Wirkung einer gewissen Temperatur combinirt.

Die Hauptbedingung einer vollkommen gelungenen Einbettung ist also, dass alles, was sich in dem fixirten Ob-

[1]) Siehe z. B. im VI. Abschnitt die Methode ALTMANN's: Austrocknen im Vacuum unter der kritischen Temperatur (im festgefrorenen Zustand) und Einschmelzen, ebenfalls im Vacuum, in Paraffin.

ject vor dem Einbetten noch in flüssigem Zustand befindet, von der Einbettungsmasse verdrängt und ersetzt werde. Aus dieser Bedingung folgt, dass das Object, wenn es in die flüssige Einbettungsmasse kommt, keine flüssigen Substanzen enthalten darf, welche mit jener nicht in jedem Verhältniss mischbar sind und sie, wenigstens bis zu einem gewissen Grade, nicht zu lösen vermögen. Je grösser die Löslichkeit der Einbettungsmasse in der Flüssigkeit, womit das Object bereits durchdrungen ist, umso rascher und vollkommener — caeteris paribus — die Einbettung. Da nun weder das Wasser und andere flüssige Bestandtheile des frischen Objectes, noch die verschiedenen flüssigen Medien, durch welche das Wasser in Folge der Fixirung und der eventuellen Härtung meist ersetzt wurde, die uns heute zu Gebote stehenden besten Einbettungsstoffe zu lösen und sich mit ihnen beliebig zu mischen im Stande sind, so müssen jene zuerst von einer Flüssigkeit, welche es kann, vollkommen verdrängt werden. Solcher Flüssigkeiten, Vermittlungsmedien, kennen wir viele. Den Process, bei welchem man das Object mit einer Flüssigkeit, welche ihrerseits wieder von der Einbettungsmasse, namentlich von dem warmen, flüssigen Paraffin, vollkommen verdrängt werden kann, durchtränkt, damit keine andere Flüssigkeit in dem Object zurückbleibe, nennt man in der Mikrotechnik häufig ebenfalls Aufhellen[1], obwohl dabei ein Aufhellen, Durchsichtigwerden des Objectes, nicht nothwendigerweise eintritt. Wir wollen diesen Process (das Object von der Einbettungsmasse durchtränkbar machen), in Ermangelung eines besseren Ausdruckes, Vorbetten nennen.

Die für Paraffineinbettung, welche neben der Celloidineinbettung die wichtigste Einbettungsmethode der Gegenwart ist, geeignetesten Vermittlungsmedien (kurz Vermittler oder Vormedien) mischen sich mit Wasser überhaupt nicht oder vermögen nur ein geringes Quantum Wasser in sich aufzulösen, viel weniger, als durch Fixirung und Härtung in dem Object meist belassen wurde. Es handelt

[1]) Das im vorigen § erwähnte eigentliche Aufhellen, wobei das Durchsichtigmachen des Präparates behufs besserer Beobachtung der Hauptzweck ist, ist wohl auch mit mehreren der Flüssigkeiten, welche zur Vermittlung der Durchtränkung mit der Einbettungsmasse benutzt werden, möglich; es giebt aber andere und zwar sehr gute eigentliche Aufhellungsmedien, welche mit der Vorbereitung zum Einbetten nichts zu thun haben. Mehrere dieser Aufhellungsmedien können gleichzeitig auch zum Aufheben des mikroskopischen Präparates, zum Einschliessen von Dauerpräparaten dienen; worüber jedoch weiter unten!

sich also zunächst darum, das Wasser aus dem Object bis auf geringe Reste, am besten vollkommen zu entfernen, und zwar durch Einführung einer Flüssigkeit, welche ihrerseits das Vormedium der Einbettung in jedem Verhältniss zu lösen im Stande ist: diese Procedur ist das Entwässern. Entwässert wird beinahe immer mit starkem Alkohol, das Wasser vollkommen entfernt mit Alcohol absolutus.

Mit dem vollkommenen Entfernen des Wassers durch Alcohol absolutus, welcher — auch andere in den weiteren Medien noch lösliche Substanzen aus dem Object entfernend — an die Stelle des ersteren tritt, ist das Object für die zweite Hauptmethode der Einbettung, für die in Celloidin, bereits geeignet; denn das Celloidin ist schon in Alcohol absolutus in einem hinreichenden Grade löslich und kann von den als Einbettungsmasse angewandten Lösungen des Celloidins in Aethyläther und Alcohol absolutus zu gleichen Theilen, mit welchen er unbeschränkt mischbar ist, vollkommen verdrängt werden.

Die einzelnen Schritte des im Obigen skizzirten Verfahrens sind also folgende: a) das Medium, mit welchem fixirt wurde, wird zuerst von dem, welches conserviren oder nachhärten soll, vollkommen verdrängt (falls nicht beide dasselbe sind); b) das conservirende resp. härtende Medium wird von einem Medium, welches gleichzeitig das Wasser entzieht, d. h. entwässert, und das folgende Medium unbegrenzt zu lösen vermag, ersetzt; c) das entwässernde Medium wird durch das Vormedium (dem Vermittler) ersetzt, welches mit dem folgenden mischbar ist und es auch, bis zu einem gewissen Grade wenigstens, löst; d) das Vormedium (resp. bei Celloidineinbettung schon das entwässernde Medium) wird von der Einbettungsmasse vollkommen verdrängt und letztere zum Erstarren und zur Annahme einer schnittfähigen Consistenz gebracht.

Und damit haben wir die wichtigsten Methoden, welche die durch Grösse und Veränderlichkeit des Objectes verursachten Schwierigkeiten überwinden, bereits alle aufgezählt. Wir brauchen nur noch die letzte Gruppe von Hindernissen, nämlich die geringe Auffälligkeit der Structur des Präparates und die schwere Erkennbarkeit der Natur der Structurelemente im mikroskopischen Bild, zu behandeln.

Die Structur im Allgemeinen wird in erster Linie dadurch auffälliger gemacht, dass das Präparat in einem Medium untersucht wird, dessen Lichtbrechung entweder viel schwächer oder aber viel stärker als die der zu untersuchenden Structurelemente ist; dann treten letztere vermöge ihrer eigenen Lichtbrechung in verschiedener Schärfe hervor, je nachdem der Unterschied zwischen ihrem eigenen Brechungs-

exponent und dem des Beobachtungsmediums kleiner oder grösser ist. Die Effecte der eigenen Lichtbrechung können auch durch Modificationen der mikroskopischen Beleuchtung wesentlich vermehrt werden.

Diese Methoden der Differenzirung des mikroskopischen Bildes bringen am wenigsten die Gefahr mit sich, dass es durch unbemerkte und uncontrollirbare Kunstproducte beeinflusst wird. Absichtliche und controllirbare Kunstproducte rufen wir dadurch hervor, dass wir den Structurelementen, welchen wir gewisse Reagentien zuführen, auffällige Farben verleihen. Die Färbung kann alle Structurelemente betreffen: Gesammtfärbung, welche eine diffuse und eine differenzirende sein kann. Die letztere verleiht den verschiedenen Elementen verschiedene Farben oder Farbentöne, wenigstens Färbungsintensitäten. Die Färbung kann sich aber auch blos auf gewisse Structurelemente beschränken, wobei die übrigen im mikroskopischen Bild ganz unsichtbar zu machen sind: isolirende Färbung.

Die mikroskopische Färberei ist entweder eine Tinction oder eine Imprägnirung. Bei der Tinction ist die Vereinigung des Farbstoffes, mag er fertig zugeführt oder an Ort und Stelle gebildet werden, mit dem betreffenden Structurelement viel inniger, und es sind darin keine mikroskopisch nachweisbaren, geformten Partikel des Farbstoffes vorhanden. Bei der Imprägnirung sind die meist an Ort und Stelle, in Form eines Niederschlages entstandenen färbenden Partikel mikroskopisch nachweisbar, im besten Fall dem Structurelement eingelagert, oft aber nur aufgelagert.

Die Färbungen werden, je nach ihrer Natur und ihrem Zwecke, bald während der einen, bald während der andern Phase der Vorbereitung des Objectes zur mikroskopischen Untersuchung ausgeführt, oft sogar noch vor der Fixirung. Die einzige allgemeine Regel, welche hier aufgestellt werden kann, ist die, dass die Färbung, soweit es ihre eigene Natur nur erlaubt, bei dem Zustande des Präparates ausgeführt wird, wo die nicht bezweckten Nebenwirkungen der Färbung die Beschaffenheit des Objectes am wenigsten beeinflussen.

Meist an ein ganz bestimmtes Stadium des Präparates gebunden sind jene Proceduren, welche das Auffälligmachen von natürlichen Hohlräumen des thierischen Körpers bezwecken: entweder werden gefärbte Flüssigkeiten in die Hohlräume eingetrieben und ihr Ausfliessen wird, meist durch die Erstarrung der Flüssigkeit, verhindert; oder es werden feine, gefärbte, wenigstens opake Niederschläge einer Flüssigkeit in den

Hohlräumen, wenn möglich ohne gleichzeitige Färbung der Körpersubstanz selbst, bewirkt. Ersteres ist die Injection, letzteres eine Art Imprägnirung.

Zum mikroskopischen Dauerpräparat wird das nach den obigen Methoden behandelte Object erst dann, wenn es zwischen Objectträger und Deckglas (seltener auf dem Objectträger ohne Deckglas) in irgend einem Einschlussmedium unterbracht worden ist. Der Einschluss des Präparates kann entweder trocken oder feucht sein.

Beim trockenen Einschluss ist das Einschlussmedium entweder Luft oder eine glasartig erstarrende Flüssigkeit, z. B. Lösungen von Harzen in leicht verdunstenden Flüssigkeiten, von Gummi arabicum und Zucker in Wasser etc. (Gelegentlich wird das Einschlussmedium blos zu einer mehr-weniger festen Gallerte: halbtrockener Einschluss z. B. in Glycerinleim.) Beim feuchten Einschluss (am gewöhnlichsten in Glycerin) und beim trocknen Einschluss in Luft wird der Rand des Deckglases mit dem Objectträger durch einen Rahmen von einer erstarrenden Masse verkittet: das Präparat wird umrandet.

Das Einschlussmedium darf an dem Zustande des Objectes, in welchem es sich befindet, als es hineingelegt wird, sogar nach längerer Zeit nichts ändern, ausser es aufhellen, durchsichtiger machen. In diesem Sinne ist das Einschlussmedium gleichzeitig meist auch ein Aufhellungsmittel (gelegentlich kann es aber, wenn es ein Medium von besonders geringem Lichtbrechungsvermögen ist, wie z. B. die Luft, dazu dienen, um das Object weniger durchsichtig, als es in den vorhergehenden Medien gewesen ist, und dadurch zehr zarte Elemente auffälliger zu machen: Verdunkelungsmittel).

Das Object muss, bevor es eingeschlossen werden kann, von einem Medium durchdrungen sein, welches sich mit dem Einschlussmedium klar mischt und es gut löst. Das Durchtränken des Objectes mit einem solchen Medium vor dem Einschluss (z. B. das Verdrängen des Alkohols, worin sich das Object vorher befand, durch ein ätherisches Oel, welches Canadabalsam klar löst) wird von vielen auch Aufhellen genannt, obwohl das Aufhellen des Objectes auch bei dieser Procedur ganz nebensächlich ist und keineswegs immer erfolgt. (So wird ein Object, welches sich in einer wässerigen Flüssigkeit befand, von dem starken Alkohol, womit man es durchtränkt, um es in venetianischen Terpentin nach Vosseler einschliessen zu können, nicht aufgehellt.) Wir wollen also diese Medien, vielfach fälschlich Aufhellungsmittel genannt, Vermittlungsmedien oder Vormedien des Einschlusses nennen, um sie von den oben bereits erwähnten Vor-

medien der Einbettung zu unterscheiden, wenn auch gewisse Vormedien der Einbettung auch als Vormedien des Einschlusses dienen können.

Wir wollen jedoch die Aufzählung der mikrotechnischen Methoden hier nicht weiter fortsetzen. Es giebt deren noch viele, welche gar nicht erwähnt wurden. Von allen sollen sämmtliche Mittel und die Art und Weise ihrer Anwendung in den betreffenden Capiteln dieses Buches genau erörtert werden.

Das bereits Mitgetheilte wollte hauptsächlich dem Anfänger blos einen allgemeinen Begriff davon verschaffen, wie sich die moderne Mikroskopie über die Schwierigkeiten ihres Gegenstandes hinwegzuhelfen sucht. Die Nothwendigkeit einer vielseitigen und rationell ausgearbeiteten Mikrotechnik und besonders die Pflicht, diese bei den wissenschaftlichen Untersuchungen in vollem Maasse auch anzuwenden, sind selbstverständlich, obwohl leider nur zu viele Forscher nichts davon wissen wollen.

Was wir in der Mikrotechnik bereits erreicht haben, kann am besten dann beurtheilt und gewürdigt werden, wenn wir erst sehen, wie sich die hervorragendsten Forscher früherer Zeiten zu helfen wussten, oder, vielleicht besser gesagt, wie sie es nicht wussten. Deshalb wollen wir in den nächsten Capiteln die Vergangenheit der mikroskopischen Technik im Allgemeinen überblicken.

Zweiter Abschnitt.
Geschichte der Mikrotechnik im Allgemeinen.

Zweites Capitel.
Erste Periode.

§ 6.

Eintheilung der Geschichte der Mikrotechnik in Perioden.

Wenn wir die Vergangenheit unserer Technik überblicken, so muss uns zunächst ein gewisser Gegensatz in der Art und Weise des Fortschrittes auffallen, in welcher die Mikroskope einerseits und die mikroskopischen Präparate andrerseits ihre gegenwärtige Vollkommenheit erreicht haben. Die Vervollkommnung des Mikroskopes ging seit seiner Erfindung oder besser seit seiner allgemeinen Anwendung bei wissenschaftlichen Arbeiten bis auf unsere Tage ganz allmählich, nahezu gleichmässigen Schrittes, vor sich; die Entfernungen der einzelnen Stufen stehen zu der Zeit, deren der betreffende Fortschritt bedurfte, in einer gewissen Proportion. Dagegen wurde die Kunst, mikroskopische Präparate herzustellen, während der ersten 200 Jahre der mikroskopischen Beobachtungen, d. h. im 17. und 18. Jahrhundert und in den ersten Decennien des jetzigen Jahrhunderts nur sehr wenig gefördert; um so rascher war der Fortschritt von dieser Zeit an und, je mehr wir uns der Gegenwart nähern, eines um so kleineren Zeitraumes bedurfte es, um die wichtigsten Vervollkommnungen in unserer Technik herbeizuführen: die letzten Jahrzehnte haben hier weit mehr geleistet, als die ersten Jahrhunderte.

Anders konnte es ja auch nicht sein. Zuerst musste das mikroskopische Sehen überhaupt möglich und dann auch bei stärkeren Vergrösserungen scharf genug gemacht werden. An grosser Stärke der möglichen Vergrösserung fehlte es nicht lange: schon die Hartsoeker-schen einfachen Mikroskope gestatteten im Jahre 1694 eine über 1000-fache Vergrösserung. Wie gross musste aber hier die sphärische und

chromatische Aberration sein, da es sich wahrscheinlich gar nicht um geschliffene Linsen, sondern blos um kleine kugelige Tropfen geschmolzenen Glases handelte[1]!

Erst in den fünfziger Jahren dieses Jahrhunderts begannen die Optiker (namentlich Powell und Lealand in England und Oberhäuser und Hartnack auf dem Continente), Mikroskope in die Hände der Forscher zu geben, womit man auch bei stärkeren Vergrösserungen entsprechend deutlicher sehen und so in die Structurfeinheiten der Organismen erst recht eindringen konnte. Erst von dieser Zeit an wurde der beinahe klägliche Zustand, in welchem sich die Lebewesen oder deren Theile in den meisten früheren Präparaten befanden, wirklich auffallend, und das Bedürfniss einer besseren Vorbehandlung rege. Immer hat ja die Einsicht, dass noch bessere Präparate dringend nöthig sind, den hauptsächlichsten Anlass zur weiteren Förderung der Mikrotechnik gegeben.

Wollten wir also die Geschichte der Mikrotechnik in Perioden, welche in Betreff des in ihnen gemachten Fortschrittes nahezu gleich bedeutend seien, eintheilen, so müsste die Dauer der Perioden sehr verschieden gross und, je neuer sie sind, um so kleiner sein. Auch wäre es sehr schwer die Grenzsteine zu bestimmen, bei welchen die eine aufhört und die andere anfängt. Oft fällt die Einführung einer

---

1) Harting [1] behauptet zwar (Bd. III p. 49) mit solchen von ihm selbst verfertigten Glaskügelchen bei etwa 1000facher Vergrösserung die Gruppe 7 der Nobert'schen Probetäfelchen (der älteren, mit 30 Gruppen) deutlich gesehen zu haben, so berichtet aber selbst (Bd. III p. 143) von einem aus 1840 stammenden zusammengesetzten Mikroskop Ch. Chevaliers, des seinerzeit vielleicht berühmtesten Mikroskopmachers, seine höchste Leistung bei Vergrösserungen zwischen 882- und 1500fach sei das Deutlichmachen der Gruppe 7 der Nobert'schen Probetäfelchen gewesen. Dies kommt aber nicht einmal der Lösung von Pleurosigma balticum gleich, da bei dem letzteren zwischen 1300 und 1400 Linien auf 1 Millimeter kommen (Abstand der Streifen 0·74 Mikromillimeter), wogegen in der Gruppe 7 des Probetäfelchens blos 1108 auf 1 Millimeter vorhanden sind (Abstand der Streifen 0·902 Mikromillimeter; s. Nägeli und Schwendener [2] die Tabellen auf Seite 138-140). Mit den heutigen apochromatischen Objectivsystemen und Compensationsocularen ist Pleurosigma balticum schon bei einer 250fachen Vergrösserung sehr leicht zu lösen, wozu bereits die numerische Apertur 0·65 des Objectivs hinreicht. (Objectiv von 8 mm Aequivalent-Brennweite und Ocular 8. Bei Anwendung des Objectivs 4, von 0·95 numerischer Apertur sehe ich bei derselben Vergrösserung, also mit Ocular 4, sogar die drei Liniensysteme von Pleurosigma angulatum sehr deutlich, und zwar bei geradem Lichte und auf einmal.)

Methode in die Wissenschaft in eine frühere Periode, als in welcher sie zum Gemeingute und für die Periode charakteristisch wurde. Charakteristisch für eine Zeit sind nämlich nicht die Methoden, welche, in ihr zuerst aufgetaucht, uns heute als ihre grösste Errungenschaft erscheinen, sondern diejenigen, mit welchen damals die meisten, in der Wissenschaft erfolgreich thätigen Forscher gearbeitet haben. Auch genügt es also nicht die Methoden eines, wenn auch des hervorragendsten Forschers zu kennen. Der Betreffende kann sogar in der Technik seiner eigenen Zeit weit zurückgeblieben gewesen sein und durch seine persönlichen Vorzüge doch Grösseres, als die besten Techniker geleistet haben. Beispiele könnten wir unter den noch heute thätigen Heroen unserer Wissenschaft mehrere erwähnen. Nicht einmal weitverbreitete und viel gepriesene Lehrbücher der Technik werden uns über die Technik der Zeit, in welcher sie erschienen (meist nur neu aufgelegt) sind, immer getreu unterrichten. So war zum Beispiel die Technik gegen Mitte der achtziger Jahre nicht nur, was vergängliche Modesachen, sondern die wirklichen, bleibenden Vorzüge betrifft, gewiss ganz anders, als sie aus der 1886 erschienenen letzten Auflage des Frey'schen Buches [4] zu erlernen wäre. Ist ja dort die ganze eigentliche Mikrotomtechnik, welche das hauptsächliche Characteristicum jenes Decenniums ist, mit einer entschiedenen Missachtung, beinahe als nutzlose Spielerei behandelt und in der dürftigsten Weise, vielfach ganz falsch, vom Standpunkte der sechziger Jahre geschildert[1]. Um die Technik einer gewissen Zeit vollkommen richtig beurtheilen zu können, müsste man die ganze wissenschaftliche Thätigkeit derselben aus den Originalarbeiten oder wenigstens aus Berichten, welche auch die Methoden berücksichtigen, kennen. Da mir nun eine hinreichende Zahl von Originalarbeiten blos seit den ersten Decennien

---

[1]) Das Gepräge derselben Schule trägt auch das Buch von Nägeli und Schwendener [2]. Hier lesen wir auf Seite 273 Folgendes: „Die in neuerer Zeit vielfach empfohlenen Mikrotome — Apparate, welche die Herstellung dünner Durchschnitte durch harte Gewebe erleichtern sollen — finden gewiss in manchen Fällen, namentlich wo eine grössere Ausdehnung und gleichmässige Dicke der Schnitte wünschenswerth ist, wie z. B. bei mikroskopischen Cabinetstücken, ganz zweckmässige Verwendung. Für wissenschaftliche Untersuchungen scheint uns dagegen ihr Werth sehr untergeordnet, da es hier meistens blos darauf ankommt, kleine Stücke eines Objectes gut zu durchschneiden oder wenigstens beim Durchmustern der Schnitte brauchbare Stellen zu finden. Wir bekennen uns überhaupt zu der Ansicht Mohl's, dass mechanische Vorrichtungen dieser Art, welche das künstlich potenzirte Auge durch künstlich potenzirte Hände unterstützen sollen, der Wissenschaft wenig Nutzen bringen,

dieses Jahrhunderts zugänglich ist, und auch die Berichte, welche in dieser Hinsicht über frühere Zeiten in neueren Büchern zu finden sind, nicht genügen, so kann ich die Schilderung der Vergangenheit der Mikrotechnik, welche ich hier in allgemeinen Zügen geben will, blos als einen ersten Versuch betrachten. Die Geschichte der einzelnen Methoden gehört in spätere Capitel.

Zunächst will ich, in Betracht der oben erwähnten Schwierigkeiten, in der Geschichte der Mikrotechnik blos drei Perioden unterscheiden.

Die erste Periode dauert von den Anfängen der mikroskopischen Untersuchungen bis zu Ende der dreissiger Jahre. Sie kann vielleicht am ehesten durch die Herrschaft der Methode des Auftrocknens mikroskopischer Präparate auf den Objectträger kurz bezeichnet werden.

Die zweite Periode dauert von Anfang der vierziger Jahre bis zu Ende der siebziger Jahre. Compressorium und Rasirmesser herrschen in der Herstellung von mikroskopischen Präparaten, welche schon in flüssigen Medien aufgehoben werden.

Die dritte Periode dauert von Anfang der achtziger Jahre bis zu unseren Tagen. Sie ist die der Herrschaft des Mikrotomes.

§ 7.

Erste Periode.

In dieser bestand die Mikrotechnik lediglich darin, dass das Object, lebend oder abgestorben, resp. abgetödtet, aber nicht fixirt oder

---

und dass einfache Werkzeuge in geübter Hand vollkommen ausreichen und meist bessere Dienste leisten als complicirte. Auf eine Beschreibung der Mikrotome glauben wir daher um so eher verzichten zu dürfen, als die Verfertiger derselben gewöhnlich jedem abzugebenden Instrument eine Gebrauchsanweisung beilegen". Aus diesen Zeilen, welche aus der ersten Auflage von 1867 (p. 264) Wort für Wort in die zweite von 1877 übernommen wurden, erhellt, wie wenig sogar ein Nägeli Mitte der siebziger Jahre die Wichtigkeit des Mikrotoms eingesehen und seine wahre Bedeutung verstanden hat. Allerdings ist dieser Umstand bei einem Botaniker noch eher, als bei Jemandem, der sich mit thierischer Morphologie beschäftigt, zu verstehen, wie z. B. bei Beale, von dem bereits erwähnt wurde, wie seine letzte Auflage [2] von 1880 der Mikrotomtechnik gegenüber steht. Uebrigens ist die Anschauung Nägeli's und Schwendener's über den Nutzen der Mikrotome blos eine Wiederholung der von Harting, zum Theil sogar mit denselben Phrasen (z. B. über mikroskopische Cabinetstücke: Harting [1] 1866 Bd. II p. 79. Siehe auch weiter unten in § 8 p. 58 und 59).

conservirt, dem Mikroskope zugänglich gemacht wurde. Dauerpräparate, in welchen die Beschaffenheit der Lebewesen irgendwie fixirt gewesen wäre, existirten nur insofern, als das einfache Auftrocknen des Objectes an der Luft auf ein Glas- oder Glimmerplättchen zum Fixiren und das Aufbewahren in Luft, höchstens durch Umrandung gegen Staub und Milben geschützt, zum Conserviren hinreichte. Dagegen waren die mikrochemischen Untersuchungen der Gewebe gegen das Ende dieser Periode bereits begonnen, indessen ohne die Absicht, durch die chemischen Eingriffe das Object als mikroskopisches Dauerpräparat tauglicher zu machen.

Der Anfang der Periode fällt in die Zeit von Robert Hooke (1635-1702), Nehemiah Grew (1628-1711), Anthony van Leeuwenhoek (1632-1723), Marcello Malpighi (1628-1694) und Jan Swammerdam (1637-1680); das Ende, was Mikrographie anbelangt, in die von Marie Franç. Xav. Bichat (1771-1802), K. E. von Baer (1792-1876), Christ. Gottfr. Ehrenberg (1795-1876) und, seinem Hauptwerke nach, von Theodor Schwann (1810-1882). Wir werden wohl am leichtesten einen Einblick in die Mikrotechnik dieser Zeiten gewinnen, wenn wir die Methoden der Ersteren mit denen der Letzteren vergleichen.

Anfangs war das Schicksal der Mikrographie vollkommen in den Händen der Mikroskopverfertiger. Die Forscher mussten sich mit dem Ausfindigmachen und Ausführen verschiedenster Einrichtungen des Mikroskops und seiner Nebenapparate beschäftigen, welche die heutigen Mikrographen bei ihren Instrumenten bereits fertig vorfinden; zum Theil verfertigten sie, wie z. B. Leeuwenhoek, ihre Mikroskope selbst. Zunächst mussten sie zwei Probleme lösen: nämlich die der genügenden Beleuchtung und der erwünschten Einstellung des Objectes.

Es ist bekannt, dass Untersuchungen mit dem zusammengesetzten Mikroskop im ganzen siebzehnten Jahrhundert blos bei auffallendem Licht angestellt werden konnten; erst der Deutsche Hertel hat Untersuchungen im durchfallenden Licht dadurch recht möglich gemacht, dass er unter dem mit Oeffnungen versehenen Objecttische des aufrecht stehenden Mikroskopes einen Planspiegel anbrachte (1715). Wohl waren schon die zusammengesetzten Mikroskope von Bonannus (1691) zu Untersuchungen mit durchfallendem Licht eingerichtet, sie lagen aber horizontal, gegen die Lichtquelle gerichtet. In dieser Weise mussten auch die einfachen Mikroskope, welche an optischer Leistungsfähigkeit die damaligen zusammengesetzten weit übertrafen, gehalten werden. Mit solchen hat Leeuwenhoek seine mikroskopische Liebhaberei, welche der Wissenschaft doch von so grossem Nutzen

geworden ist, befriedigt. Zur Concentrirung der Lichtstrahlen auf das Object wurden seit dem Ende des siebzehnten Jahrhunderts, sowohl für das durchfallende, als auch für das auffallende Licht, biconvexe Linsen, welche durch mechanische Einrichtungen bereits genähert und entfernt werden konnten, in Gebrauch; sie können als erste Entwicklungsstufen der heutigen Condensoren, namentlich des Abbe'schen Beleuchtungsapparates, betrachtet werden.

Was die Einstellung des Objectes betrifft, so waren die Mikroskope von Leeuwenhoek noch ganz besonders primitiv: das kleine Postament, welches als Objecttischlein diente, musste vor der fixen Linse durch kleine Schrauben bewegt werden, und die Bewegungen hatten einen sehr geringen Spielraum. Die erste feinere mechanische Einrichtung zum Bewegen des Tischleins, auf welches das Object zu liegen kam, finden wir ebenfalls bei den zusammengesetzten Mikroskopen Hertel's; im Wesentlichen ist sie dieselbe, wie die auch heute meist gebräuchliche. Dasselbe kann man von den Einrichtungen Cuff's, nach den Rathschlägen Baker's (1753) verfertigt, sagen, was die feinere Einstellung des Mikroskopes selbst (durch Schrauben) betrifft.

Anfangs nahm man die Objecte, welche nun gehörig beleuchtet und eingestellt werden konnten, so hin, wie und insofern sie die Natur von selbst zur mikroskopischen Beobachtung geeignet darbot. War ja Alles, was noch so oberflächlich lag, vollkommen neu; es gab vorläufig noch keine Veranlassung dazu, in die Tiefe dringen zu wollen, um so weniger als man sich dort in einem völligen Dunkel bewegt hätte. Viele feinste Structurverhältnisse der Organismen hatte damals Leeuwenhoek beobachtet, und doch ging das optische Vermögen seiner Instrumente, bei einer bis 270fachen Vergrösserung, nur wenig über die Lösung der 3. Gruppe der älteren Nobert'schen Probeplättchen (mit 30 Gruppen: die Lösung mittelgrosser Schüppchen von Lepisma sacharinum) hinaus[1].

Es genügte, das Object, z. B. ein kleines Insect, welches seine äusseren Formen auch beim Trocknen nicht auffallend verändert, auf ein Glasplättchen aufzukleben oder (seit Huyghens 1678) zwischen

---

[1]) Bei Harting [1] (Bd. III p. 38) lesen wir über die Linsen von Leeuwenhoek Folgendes: „Die Linse im Utrechter Cabinette übertrifft aber die Londoner Linsen bei Weitem, denn sie vergrössert 270mal. Bei der Prüfung mit Nobert'schen Probeplättchen (I, § 240, 41) zeigte es sich, dass bei günstiger Beleuchtung die dritte Gruppe noch ganz gut zu unterscheiden war, ja selbst die vierte mit einiger Mühe. Das ist wahrscheinlich die äusserste Grenze des optischen Vermögens der Leeuwenhoek'schen Mikroskope".

zwei Plättchen einzuschliessen. Am Ende des siebzehnten Jahrhunderts waren bereits die mit Oeffnungen versehenen hölzernen oder beinernen Schieber in Gebrauch, worin die Objecte zwischen zwei Glimmerplättchen lagen, die durch einen kleinen Messingring zusammengedrückt wurden. Zur feineren Beobachtung trennte man auch die äusseren Organe solcher Thiere von einander. Weichere Objecte, welche durchsichtig waren, plattete man zwischen zwei Glasplättchen zusammen oder zerquetschte sie. Zum Befestigen kleiner Gegenstände auf dem Objecttischlein bediente man sich auch spitzer Nadeln, verschieden geformter, spitzer oder stumpfer kleiner Gabeln, Pincettchen etc. Dagegen legte man kleine Objecte, um sie, ohne sie zu beschädigen, in der gewünschten Lage halten zu können, zwischen zwei Glasplättchen, von welchen das eine in der Mitte eine entsprechende Vertiefung (z. B. eine eingeschliffene Concavität) besass. Dieser ursprünglichsten Form kamen später die verschiedensten Thierbüchschen nach, welche einerseits zu unseren gegenwärtigen Objecttischaquarien, andrerseits aber (durch v. Recklinghausen) zu den modernen feuchten Kammern führten. Auch von grösseren Thieren wurden, nachdem man sie irgendwie in einer günstigen Lage befestigt, namentlich in entsprechende enge Röhrchen, wo sie sich nicht bewegen konnten, gesteckt hatte (z. B. kleine Fische, um die Bewegungen und die Bahnen des rothen Blutes zu sehen) durchsichtige Theile vielfach beobachtet. Flüssigkeiten wurden entweder auf Glas gestrichen und so eingetrocknet, oder zwischen zwei Glasplättchen oder auch in kleine Röhrchen gegossen, untersucht.

In ähnlichen Manipulationen bestand beinahe die ganze Mikrotechnik eines Leeuwenhoek[1]; wenn wir noch hinzusetzen, dass er von härteren Gegenständen bereits Schnitte oder Schliffe angefertigt, weichere aber, z. B. Muskeln, Blase etc. durch Trocknen zum Schneiden geeigneter gemacht hat, dass er weiter seine Präparate getrocknet, und dann in Luft aufbewahrte: so haben wir seinen ganzen Vorrath an technischen Methoden erschöpft. In seinem Nachlass fand man Präparate, wie Muskelfasern, Gehirn einer Fliege, Sehnerven einer Fliege, Quer- und Längsschnitte von Muskeln, Blase etc. Von irgend welchen chemischen oder auch nur thermischen Eingriffen, welche er zum Erleichtern des Präparirens oder zum Vorbereiten der Dauerpräparate benutzt hätte, finden wir keine Erwähnung. Und doch hat er u. A. die Querstreifung und die Fäserchen der Muskelfasern und

---

[1]) Siehe seine ‚Arcana Naturae detecta'. Leeuwenhoek [1].

die Infusionsthierchen entdeckt, die Blutzellen und die Spermatozoën untersucht!

Die Technik SWAMMERDAM's[1] unterschied sich, abgesehen von der geistigen Methode, welche seine Untersuchungen den mikroskopischen Belustigungen LEEUWENHOEK's gegenüber auszeichnet, besonders dadurch von der des Letzteren, dass er das Hauptgewicht auf feine Zergliederungen unter der Lupe legte, worin er der Grösste seiner Zeit war und auch für spätere Zeiten ein nachzuahmendes Beispiel geblieben ist. Ein Secirmikroskop lieferte ihm dazu SAMUEL MUSSCHENBROEK, und das Geheimniss der Feinheit seiner Arbeiten (Zergliederung der Mücke, der Mundtheile und Genitalorgane der Biene etc.) bestand zu einem nicht geringen Theil in der Benutzung feinster Secirinstrumente, von ganz feinen Scheeren, Messerchen, Lancetten und Nadeln, so fein, dass sie ohne Vergrösserungsglas nicht geschliffen werden konnten[2]. Pincetten zum Erfassen mikroskopischer Objecte soll er, schliesst HARTING [1] (Bd. III p. 405) aus der BOERHAVE'schen Aufzählung der Instrumente SWAMMERDAM's, noch nicht gekannt haben, obwohl solche, und zwar beinahe in ihrer heutigen Form, bald nach seinem Tode von JOH. MUSSCHENBROEK hergestellt worden sind. Aus Figur VI der Tafel XLIX der sämmtlichen Werke SWAMMERDAM's ist es jedoch ersichtlich, dass er solche bereits benutzt hat: es ist dort nämlich dargestellt, wie der Nerv eines Froschmuskels durch Zwicken mit einer Pincette gereizt wird.

Er tödtete die Thiere in Wasser, Weingeist oder Terpentin und härtete sie in der Weise, dass sie ohne Formveränderungen der Theile zergliedert werden konnten. Er blies die Eingeweide und die Gefässe mittels feiner Glasröhrchen auf, auch injicirte er sie in derselben Weise mit gefärbten Flüssigkeiten. Da er weiter auch Wachs injicirte, so war er der Erfinder der haltbaren Injectionspräparate. Andererseits

---

[1]) Eine kurze Beschreibung der Technik von SWAMMERDAM findet sich in dessen Lebensbeschreibung von HERMAN BOERHAVE, welche den sämmtlichen Werken von SWAMMERDAM (IOANNIS SWAMMERDAMMII Amstelaedamensis, Biblia naturae etc. s. Litteraturverzeichniss) vorangeht. „Sollicitissima cura omnia Viri scripta, atque epistolas, quas manscisci potui, perscrutatus sum, eo animo semper, ut inde detegerem methodum, qua exculta perficere potuit incredibilia illa, quorum pulchritudine palmam caeteris praeripuit. Quod inveni, ex officio, recitabo candidus". — sagt BOERHAVE auf Seite H.

[2]) BOERHAVE, l. c. Seite H: „Ad Anatomem subtilissimorum habebat mensam ex aere confectam, ab ingeniosissimo mechanico, SAMUELE MUSSCHENBROEKIO etc. . . . . . Praecipuum ejus arcanum erat in forficibus incredibiliter subtilibus, atque secando acutissimis . . . . . Cultellos, lanceolas, stylos, adeo parvos usurpabat, ut eos acuere ad cotem non posset, nisi microscopiis adjutus".

trocknete er die aufgeblasenen Eingeweide der Insecten und bestrich sie, um sie haltbarer zu machen, mit Lavendelölfirniss („Oleo spicae, in quo resinae paucillum resolutum"). Er wusste sogar die Nerven von Insecten so zu präpariren, dass sie beweglich und durchsichtig blieben, wie es uns BOERHAVE in SWAMMERDAM's Leben mittheilt. Auch hat er entdeckt, dass das Fett des Fettkörpers der Insecten in Terpentin löslich ist, und sie hernach in Balsam aufgehoben werden können. Die Epidermis der Raupen entfernte er, nachdem er sie in heisses Wasser getaucht; und für das Härten und Maceriren zum leichteren Zergliedern und zum Abziehen der Larvenhüllen verwandte er eine Mischung von gleichen Theilen Essig und Weingeist[1]. Alle diese waren für die damalige Zeit zwar feine mikroskopische Präparate, sind es aber im heutigen Sinne eigentlich nicht. SWAMMERDAM hat übrigens auch bei stärkeren Vergrösserungen Untersuchungen vorgenommen, wie es u. A. seine Mittheilungen über den Samen beweisen.

Etwas Anderes finden wir in Betreff der Technik auch bei MALPIGHI nicht, dessen Werke ich, ebenso wie die Biblia naturae von SWAMMERDAM und die Arcana naturae detecta von LEEUWENHOEK, um seine Methoden kennen zu lernen, im Original durchsucht habe[2]. Es werden die einzelnen Zergliederungen, z. B. die der Seidenraupe, der Puppe und des Schmetterlinges, die erste vollständige Anatomie eines Insectes[3], genau geschildert, hie und da die Anwendung des Mikroskops erwähnt, aber die Methoden der mikroskopischen Untersuchung (meist blos Betrachtung mit der Lupe) nicht beschrieben. Es werden verschiedene Organe von Wirbelthieren, namentlich des Menschen (Zunge, Finger, Zähne, Leber etc.) in verschiedenen Richtungen durchschnitten, jedoch meist blos die Schnittflächen untersucht. Dagegen wurden die Objecte zur leichteren Zergliederung vorher in verschiedene

---

[1]) BOERHAVE, l. c. Seite H: „Ipsos Insectorum nervulos modo singulari, atque arcano, sic condiebat, ut mobiles manerent, atque perspicui. . . . . Detexerat, adipem cujusque Insecti dissolvi perfecte in oleo Terebinthinae, eoque facto balsamo condiri posse; . . . . Erucas . . . aquae fervidae raptim immergens, subito inde educebat, abcedcdat" (Druckfehler) „tum facile tollenda epidermis; postea immittebat sic paratas in liquorem paratum ex aequali copia aceti stillatitii, & spiritus vini confusum: tum enim firmatae partes patiebantur separari facile exuvias illactis interioribus etc.".

[2]) Ein Exemplar der sämmtlichen Werke MALPIGHI's, herausgegeben von ROBERT LITTLEBURY, 1667, mit dem Titel: Marcelli Malpighii philosophi et medici bononiensis e regia societate opera omnia figuris elegantissimis in aes incisis illustrata. Tomis duobus comprehensa. (S. Litteraturliste.)

[3]) l. c. Dissertatio epistolica de Bombyce. 44 Seiten mit 12 Tafeln.

Flüssigkeiten eingelegt; vom Injiciren der Gefässe machte Malpighi auch Gebrauch. Die Entwickelung des Hühnchens im Ei untersuchte er aber nur ganz frisch, so wie ihm die Natur den Gegenstand darbot, mit ganz schwachen, meist nicht über, oft unter 10fachen Vergrösserungen, wie aus seinen Schilderungen, besonders aber aus seinen Figuren deutlich herrorgeht[1].

Etwas tiefer in das Gefüge thierischer Gewebe suchte Robert Hooke (Micrographia illustrata. s. Litteraturliste) einzudringen und als eine erfolgreiche Präparationsmethode wandte er, zu diesem Zwecke zuerst, das Comprimiren der Gewebstücke zwischen zwei Glasplättchen an und zeigte, dass namentlich Fett und Gehirnsubstanz in dieser Weise leicht zu untersuchen ist. Ein Kunstgriff, welcher von der späteren Forscherwelt nur zu sehr acceptirt wurde[2].

Und damit hätten wir die Mikrotechnik des Anfanges unserer ersten Periode, die des siebenzehnten Jahrhunderts, ungefähr auch erschöpft. Wie weit sie bis zu dem Ende der Periode gediehen ist, werden wir sehen, wenn wir die Technik der ersten vier Decennien dieses Jahrhunderts betrachten, und zwar hauptsächlich an der Hand der Untersuchungen von drei grossen Forschern, welche in sehr verschiedenen Richtungen gearbeitet haben, nämlich von K. E. von Baer, von Ehrenberg und von Schwann.

Die Technik der embryologischen Untersuchungen Baer's[3] war ungefähr dieselbe wie die von Malpighi; sie scheint sich auch in den sechs Jahren, welche vom Beginn bis zur Beendigung, d. h. Unterbrechung[4], der Arbeit verflossen sind, gar nicht geändert zu haben. Heute würden sich die meisten Forscher für verpflichtet halten, vor sechs Jahren begonnene Theile einer Untersuchung, „wegen der grossen Fortschritte

---

[1]) l. c. Dissertatio epistolica de formatione pulli in ovo. 12 Seiten mit 25 Abbildungen auf 4 Tafeln (geschrieben im Februar 1672); und: Appendix, repetitas auctasque de ovo incubato observationes continens. 11 Seiten mit 61 Figuren auf 7 Tafeln (geschrieben im October 1672).

[2]) Dermaassen, dass noch vor gar nicht langer Zeit viele Forscher existirten, die in der Histologie damit allein auskommen zu können glaubten. Wir kennen sogar heute noch einen Forscher, welcher die graue Substanz des Rückenmarkes zwischen zwei Gläsern zerquetscht, an der Luft, bei starker Hitze oder bei gewöhnlicher Temperatur, trocknet und so entscheidende Präparate über histologische Feinheiten bekommen will (Thanhoffer [3] 1887 und [2] Theil II p. 629. 1894).

[3]) Baer, K. E. v., Ueber die Entwicklungsgeschichte der Thiere (s. Litteraturverzeichniss).

[4]) Cfr. l. c. die Nachricht der Verleger vor dem 2. Bande.

der Technik, Präparate aus dem betreffenden Gegenstande herzustellen“, mit „verbesserten Methoden“ neu zu bearbeiten. Die grössten damaligen Forscher hielten mehr denn hundertjährige Methoden noch immer für gut genug, und zwar mit Recht, wie es u. A. die glänzenden Erfolge eines Baer beweisen, da „eine Nachlese auch für die erste Zeit der Entwicklung noch übrig geblieben“ ist, und mit den damaligen Methoden noch manche „reife Garbe zu binden“ war, „welche Frucht giebt für fernere Aussaat!“

Dank dem klaren Forscherauge Baer's — und der grossen Zahl auf dem Felde der Entwicklungsgeschichte damals noch stehender voller Aehren — genügte es, die Eier nach einer bestimmten Zeit aus der Brütmaschine herauszunehmen, sie zu öffnen und den Embryo bei einer 6fachen Vergrösserung[1] in situ zu betrachten, den Dotter mit Wasser von der Keimhaut wegzuspülen oder letztere abzuziehen und ihre Schichten mit der Nadel von einander zu trennen und in Wasser zu beobachten. Von dem Anfange der „Sonderung innerhalb des Keimes“ sagt Baer (Bd. I p. 9): „Sie lässt sich schon vor der zwölften Stunde nachweisen, wenn man den Keim vorsichtig mit Nadeln unter dem Mikroskope zerreist“. Wobei unter Mikroskop wahrscheinlich blos Lupe zu verstehen ist. Ein moderner Forscher wird diese Keimscheibe von 3 bis 4 Linien (etwa 8 mm) Durchmesser nach Fixirung, wahrscheinlich in Flemming'scher Flüssigkeit, und Einbettung, wahrscheinlich in Paraffin, wenigstens in 1600 Querschnitte zerlegen und alle nach der Reihe durchstudiren. Dafür hat aber Baer zu seinen Resultaten ein paar tausend Eier mehr, als der moderne Forscher untersuchen müssen.

Er scheint sich beinahe gefürchtet zu haben, sofort fehl zu gehen, wenn er sein Object nicht vollkommen lebensfrisch vor sich hat: von chemischen oder anderweitigen künstlichen Eingriffen, um es leichter handhaben zu können, erfahren wir bei ihm nichts. Für die meisten Embryologen unserer Zeit fängt das Object erst im Präparatenkasten, in den Armeen seiner Schnittreihen an zu existiren: Baer hat wohl kein einziges Dauerpräparat verfertigt. Etwas muss aber doch auch in der Arbeit dieser modernen Forscher dauerhaft sein! So konnte Baer wahrscheinlich auch keine realen Schnitte bei seinen Untersuchungen angewandt haben; jedenfalls hat die Schnittmethode an seinen Resultaten noch keinen Antheil. Einen Beweis der Erhebung des Primitiv-

---

[1]) Cfr. l. c. Bd. I die Erklärung der Abbildungen, p. 265. Der Vergleich der Baer'schen Abbildungen mit Schnitten aus entsprechenden Stadien des Hühnchens lehrten mich, dass sie meist bei einer etwas stärkeren, ungefähr 8fachen Vergrösserung gezeichnet sind.

streifens über das Niveau des Fruchthofs giebt er z. B. im folgenden Satz (Bd. I p. 13): „Einige mal sah ich ihn als einen erhabenen, nach unten hohlen, dann aber fast durchsichtigen Wulst, der sich wohl 1/3 Linie aus der Ebene erhob, wie nicht nur der Schatten, sondern besonders auch das Herabgleiten an seinen Seiten mit einer feinen Sonde oder Borste lehrte".

Baer giebt nicht einmal die Möglichkeit davon zu, dass im Embryo dort, wo er bei Lupenvergrösserungen homogen aussieht, oder in der Keimscheibe, bevor sich der Embryo gebildet hat, irgend welche Differenzirung vorhanden sei; wäre eine solche vorhanden, so müsste er sie mit seinen Linsen auch sehen; denn alle Theile sind im Embryo, sobald sie überhaupt da sind, viel gröber gezimmert als im Erwachsenen. Deshalb denkt er gar nicht daran, dass künstliche Eingriffe, etwa die Anwendung von Reagentien, von welchen zwei der heute noch wichtigsten, der Weingeist und die Essigsäure, wohl damals schon in allgemeinerem Gebrauch waren, im Vereine mit stärkeren Vergrösserungen als die durch sein Taschenmikroskop von Adams in London gestatteten in den scheinbar homogenen Theilen Structuren hervortreten lassen könnten[1]. Aber gerade diese vorgefasste Meinung, welche Baer mit beinahe allen seinen Zeitgenossen theilte, ist es, was die Mikrotechnik des Anlasses zu ihrer weiteren Förderung so lange beraubte.

---

[1]) Cfr. l. c. Scholion I: „Ueber die Sicherheit in der Beobachtung der Embryonen", auf p. 143-146, Bd. I, welches auf den technischen Nihilismus jener Zeit ein überaus interessantes Licht wirft. Wir wollen den Schluss dieses Scholions hier ganz citiren: „Aus diesen Gründen ist für die Untersuchung der Embryonen, wenigstens der Embryonen höherer Thiere, fast nie eine sehr starke Vergrösserung erforderlich. Eine solche verwischt die geringen Unterschiede in der Textur und verdünnt die Schatten, an denen man oft ganz allein die Lagerung, sowie die Gestaltung innerer Theile erkennt, zu sehr. Ein grösseres Bedürfniss als die starke Vergrösserung ist es, die verschiedenen Schatten, die sich oft decken, mit Bestimmtheit zu unterscheiden und den Embryo nach allen Seiten wenden und ihn unter schwacher Vergrösserung zergliedern zu können. Meine Untersuchungen haben mich viel rascher weiter geführt, nachdem ich angefangen hatte, unter einer Linse von etwa fünf Linien Brennweite zu beobachten, unter welcher ich mit beiden Händen an dem in einem mit Wasser gefüllten Uhrglase liegenden Embryo arbeiten konnte. Ich habe mich hierzu eines von Adams in London verfertigten Taschenmikroskopes bedient, welches nicht nur als einfaches Mikroskop mit 1 bis 3 Linsen, sondern auch nach Bedürfniss als zusammengesetztes gebraucht werden kann. Nicht oft habe ich eine oder zwei Linsen zu der ersten hinzugefügt, seltener den Tubus des zusammengesetzten Mikroskopes angewendet und nur sehr selten zu einem stärkeren Mikroskope meine Zuflucht genommen, und auch dann meist ohne den gehofften Erfolg".

Im Gegensatz zu Baer wurde Ehrenberg [1] schon durch seinen Gegenstand zur Benützung stärkerer, ja der stärksten damaligen Vergrösserungen gezwungen. Er erzählt zwar, dass er seine „ersten und glücklichen Untersuchungen über das Keimen der Schimmelsamen mit einem hölzernen Nürnberger Mikroskop à 10 Thlr., einem damals unschätzbaren Geschenk meines Bruders Ferdinand E., dem ich hiermit danke“, gemacht hat und „die neuesten Verbesserungen nur zur weiteren, reicheren Entwicklung der schon gewonnenen Grundsätze noch anwenden“ konnte. „Ein gutes Mikroskop“, sagt er jedoch ferner (p. XVI), „erleichtert die Untersuchung und befördert die Klarheit der Erkenntniss. Man bedarf nothwendig zur Untersuchung der Infusorien eine Vergrösserung von 300 bis 400mal im Durchmesser und verliert viel Zeit und Kraft, wenn diese unklar ist. Zum Weiterfördern der Wissenschaft kann man mit 800 bis 1000maliger noch sehr Vieles thun“. Wie viel nun eine 1000-fache Vergrösserung damals leisten konnte, haben wir schon erwähnt. Was musste da die Phantasie Ehrenberg's Stoff zum Ausmalen der Organisation der Infusorien an uncontrollirbaren Schatten und Reflexen, chromatischen und sphärischen Aberrationen finden! Von künstlicher Differenzirung der mikroskopischen Structur lesen wir bei Ehrenberg beinahe noch gar nichts, wie es auch überhaupt in der Infusorienforschung länger gedauert hat, als in anderen Zweigen der thierischen Mikromorphologie, bis sich eine moderne Technik Bahn brechen konnte. Die Protozoën sind eben schon in ihrer natürlichen Beschaffenheit ein leichteres Untersuchungsobject, als dass es hätte nothwendig erscheinen können, sie künstlich zugänglicher zu machen. Einige ganz geringe Spuren von einer solchen Tendenz finden wir übrigens sogar bei Ehrenberg. Er hat nämlich einzelne grössere Infusorien mit seinem „Federpinsel“, d. h. „mit der pinselartig abgeschnittenen feinen Spitze des Federschaftes einer Raben- oder Gänsefeder“, aufgefangen, in „Reagenzgläser mit klarem Wasser“ gesetzt und dort mit kleineren farbigen Thierchen gefüttert, wobei er bald „ihr Eierlegen und die ganze Entwicklung“ beobachten zu können glaubte. Noch wichtiger ist aber, dass er dem Tropfen Wasser mit Infusorien eine durchscheinende Tuschfarbe zusetze. Die Wirkung des Experiments soll zwar schon ohne Verschlingen der Farbe durch das Infusorium überraschend gewesen sein, am lehrreichsten muss sie aber doch durch das Verschlingen der Farbtheilchen, eine Art vitaler Imprägnirung, gewesen sein. „Am

---

[2]) Ehrenberg, D. Christ. Gottfr., Die Infusionsthierchen als vollkommene Organismen (s. Litteraturverzeichniss).

besten sind", berichtet EHRENBERG (p. XVII), „Indigo, Carmin oder Saftgrün in Form reiner Tuschfarben". Um Tinctionsversuche handelte es sich bei ihm jedoch, wie ersichtlich, noch nicht[1].

EHRENBERG hat die Infusorien aus einem Uhrgläschen, wo er sie zuerst durchmusterte, mit dem erwähnten Federpinsel herausgefangen und in einem Tropfen Wasser auf „einem flachen Glastäfelchen" unter das Mikroskop gebracht. Das „Auflegen sehr feiner Glas- oder Glimmerblättchen auf den Tropfen" sollte hauptsächlich verhindern, dass die Wasserdämpfe die Objectlinse beschlügen. Die Anwesenheit kleiner Fragmente von Conferven schützte die grösseren Infusorien gegen den Druck des aufgelegten Blättchens. Ein erhöhter Druck wurde dagegen durch Anwendung von Compressorien („Pressen oder Quetscher") erreicht, von welchen auch EHRENBERG eine Art erfunden hat.

Mechanischer Einrichtungen zum Comprimiren wurden übrigens seit GÖZE 1782 (HARTING [1] Bd. III 348) mehrere empfohlen, und keine geringeren Leute als PURKINJE, VALENTIN und in der späteren Periode PACINI, DUJARDIN, QUATREFAGES u. A. bemühten sich, diesen damals wichtigsten mikrographischen Nebenapparat zu vervollkommnen[2]. EHRENBERG hat aber auch Infusorienanatomien unter dem Mikroskop getrieben und sich dazu zweischneidiger, in eine lange, ganz feine Spitze auslaufender Messerchen bedient.

---

1) Ebenso waren die Experimente des Botanikers HEDWIG [1] (p. 19) mit dem Decoct von Fernambukholz keine Tinctionsversuche, sondern blos zur Demonstrirung des Saftsteigens in den Pflanzen bestimmt. — Auf diesen Autor hat mich mein verehrter Freund AUG. KANITZ, Professor der Botanik an der hiesigen Universität, aufmerksam gemacht.

Es ist interessant zu lesen, wie hoch die Zeitgenossen die Fütterungsversuche EHRENBERG's schätzten. In dem „Bericht über die Fortschritte der Zoologie im Jahre 1834" sagt AR. FR. AUG. WIEGMANN: „Schon GLEICHEN fütterte, wie EHRENBERG, die Infusionsthiere mit farbigen Nahrungsstoffen, aber jener that das mehr zu seiner eigenen Belustigung, was von diesem als ein treffliches Hülfsmittel angewandt wurde, um die innere Organisation und das eigentliche Wesen dieser Thierklasse aufzuhellen" (Arch. Naturg. Jahrg. I, Bd. I, 1835, p. 2). Freiherr FRIEDR. WILH. VON GLEICHEN lebte von 1717-1783 (siehe CARUS p. 564).

2) Das Compressorium, auch Pressschieber genannt, scheint eine Zeit lang nach GÖZE ausser Gebrauch gekommen zu sein. Die Ursache davon war, dass GÖZE, welcher bei seinen Untersuchungen über Helminthen von dem Pressschieber den ausgedehntesten Gebrauch gemacht hat, dabei so unvorsichtig war, dass er, wie C. Th. VON SIEBOLD 1834 sagt, von vielen Dingen, die er untersuchte, eine falsche Ansicht bekommen musste. Erst in den dreissiger Jahren ist der Pressschieber bei mikroskopischen Arbeiten, um mit SIEBOLD [1] (p. 47) zu reden, wieder zu Ehren gelangt. Man hat sich „durch

Endlich muss hier noch die Methode erwähnt werden, nach welcher EHRENBERG seine Dauerpräparate aus Infusorien verfertigte, um so mehr, als sie sich für allerlei Objecte weit in die zweite Periode hinein in manchen Beziehungen aufrecht erhalten hat. Von Dauerpräparaten besass er über 1000 Nummern, sämmtliche in hölzernen Schieberchen mit je 6 Nummern, in entsprechende runde Oeffnungen eingepasst, zwischen zwei „geschliffenen runden Glastäfelchen", am Rande mit Wachs oder Lack verbunden, wobei sie sich trocken in Luft befanden. Das Fixiren ist für EHRENBERG ein noch unbekannter Begriff, bleibt es übrigens auch noch lange Zeit, bis vor wenigen Decennien, in seinen scharfen Bestimmungen sogar bis in die neueste Zeit. Zum Tödten seiner Thierchen wendet er dagegen mehrere Mittel an, welche für gewisse Fälle auch heute noch gebraucht werden können. Entweder tödtete er sie, z. B. Hydatina, rasch mit Strychnin, oder langsam, „in der Expansion", durch mehrstündiges Entziehen der Luft, oder aber durch erhöhte Temperatur, sie in die heisse Sonne setzend. Dann wurden sie mit dem Federpinsel aus dem Uhrgläschen auf ein Glimmerblättchen oder Glastäfelchen gebracht; die Feuchtigkeit wurde „mit Löschpapier und einer Messerspitze bis auf möglichst wenig" entzogen und das Wasser auf der flachen, warmen Hand rasch vollends verdunstet. Und damit war das Präparat fertig, es brauchte nur mit einem anderen Blättchen bedeckt, zugekittet und in den Schieber eingefasst zu werden. „Jedes dieser getrockneten Thierchen ist wie ein Bild" — sagt EHRENBERG. Das können wir ihm auch glauben, zumal er empfiehlt, die aufzubewahrenden Formen vorher mit Farbe zu füttern (p. XVII-XVIII).

Gehen wir aber, um nicht allzu lange bei dieser Periode zu verweilen, auf die Technik von SCHWANN[1] über, dessen Gegenstand, die reine Histologie, ein solcher ist, welcher wohl immer den grössten Aufwand an mikrotechnischen Kunstgriffen erforderte!

---

die Irrthümer, in welche GÖZE verfallen, zu sehr abschrecken lassen, diese Methode, an Helminthen Untersuchungen anzustellen, weiter zu benutzen; auch warnte RUDOLPHI so dringend vor diesem Pressschieber, dass die Autorität dieses Naturforschers, dem die Helminthologie so Ausserordentliches verdankt, hinreichend war, jenes vortreffliche Hülfsmittel ganz zu verlassen". SIEBOLD versichert jedoch selbst, seine Untersuchungen ausser der Anwendung der Pressmethode auch durch Betrachten der Thiere in ihrem natürlichen Zustand und durch „anatomische Zergliederung, wo es nur irgend anging", vervollständigt zu haben.

[1]) SCHWANN, Th., Mikroskopische Untersuchungen etc. (s. Litteraturverzeichniss).

Was nun die erste Gruppe der in §§ 2 und 3 erörterten Schwierigkeiten anlangt, namentlich die Grösse des Objectes, so half er sich in dieser Hinsicht dadurch, dass er entweder an und für sich dünne Theile des Thierkörpers heraussuchte, so z. B. zur Untersuchung des Knorpels die Kiemenstrahlen der Plötze, oder aber weiche Theile wählte, die sich zwischen zwei Glasplatten leicht zerquetschen lassen, z. B. die herausgepresste Chorda der Froschlarven, ferner solche, die mit Nadeln zerfasert (z. B. die Muskelfasern) oder mit dem Messer in dünnen Lamellen abgeschabt werden können (Nägel)[1]. Auch griff er gelegentlich zu Schnitten und verfertigte diese hauptsächlich von den frischen Geweben. Von der Chorda dorsalis der Froschlarven sagt er: „An dem frisch getödteten Thiere lässt sie sich nicht gut im Zusammenhange lostrennen, wohl aber lassen sich dann am besten feine Querschnitte derselben erhalten". Vorbehandlungen, um die erwähnten Manipulationen des Zerlegens zu erleichtern, finden wir bei SCHWANN überhaupt erst wenige erwähnt. Eine solche ist die lange Einwirkung des Wassers, um den Zusammenhang gewisser Theile des Organismus zu lockern. So lesen wir z. B. ebenfalls von der Chorda der Froschlarven, dass sie, nachdem die Thiere 24 Stunden oder länger in Wasser gelegen haben, leicht durch die Wunde des abgeschnittenen Schwanzes herausgedrückt werden kann, was frisch, oder wenn das Thier nach seinem Tode nicht in Wasser liegt, nicht gelingt (p. 12). Eine andere Vorbehandlung ist zu demselben Zweck das längere Liegenlassen des Objectes in starkem Weingeist, worauf sich z. B. die Hornzellen an den leicht abzutrennenden Klauen des Fusses von Schweineföten gut isoliren lassen (p. 92)[2]. Ein weiteres Mittel ist das Ausziehen der „Kalkerde" aus den Knochen und den verkalkten Knorpeln mit Salzsäure. Die Einwirkung derselben wurde auch unter dem Mikroskop verfolgt, und zwar an „recht feinen Durchschnitten", welche „von den halbverknöcherten Knorpeln der Extremitäten oder Wirbel oder des Schwanzbeins der Larve von Pelobates fuscus mit einem Rasirmesser" gemacht wurden (p. 32). Auch von anderen Agentien, chemischen und mechanischen, wurde die Einwirkung direct unter dem Mikroskop beobachtet, so von Aetzkali, welches die Wände der Chordazellen löst (p. 12), von „Jodine", welche die „zwischen Chorion und Amnion ge-

[1]) Sogar das „Epithelium" der Innenfläche der Gefässe wies zuerst HENLE und dann SCHWANN in dieser Weise durch Abkratzen von Plättchen von der Innenfläche der Gefässe nach. SCHWANN p. 84 (in der Anmerkung).

[2]) Auch das Kochen wird zum Isoliren der Knorpelkörperchen als die Methode MECKAUER's erwähnt. p. 114.

legene Gallerte bei etwas älteren Schweinefötus“ färbt und so zum deutlichsten Nachweise des Cytoblastems dient (p. 134); vom Drucke des Compressoriums, unter welchem die Zellwand verschiedener Zellen zum Reissen zu bringen ist und der Zellsaft sichtbar herausströmt (u. A. auf p. 56, 93, 114) etc.

Was die optische Beschaffenheit des Objectes im Allgemeinen betrifft, so wurden überhaupt nur durchsichtige, oder wenigstens bei der Dünne der aus ihnen zu erhaltenden Schicht durchsichtige Körpertheile untersucht. Deshalb hielt sich SCHWANN mit Vorliebe an das embryonale Gewebe, welches nicht nur durchsichtiger, sondern auch leichter zu zerquetschen ist, um so mehr, als es ihm gar nicht darauf ankam, die Zellen in ihren gegenseitigen Beziehungen in situ zu erhalten. (Eine bereits vor SCHWANN gebrauchte Methode des künstlichen Durchsichtigmachens des nicht getrockneten Objects siehe auf p. 52 Anmerkung 2).

Die Activität des Organismus trat ihm nicht hindernd in den Weg, da er ja abgetrennte Theile höherer Thiere untersuchte. Nöthigenfalls hätte er sich, wie seine Zeitgenossen überhaupt, gewiss in erster Linie mit dem Compressorium geholfen.

Die Schwierigkeit, welche in der Veränderlichkeit der Lebewesen besteht, wurde von SCHWANN ebenso wie von BAER dadurch umgangen, dass er immer frisches Material nahm, welches er meist einfach in Wasser untersuchte. Dass das Wasser jedoch kein indifferentes Medium ist, wusste er wohl und sagt z. B. von den Dotterkugeln, man müsse sie „wegen ihrer Empfindlichkeit gegen Wasser, mit Eiweiss oder dünner Kochsalzlösung untersuchen, worin sie sich besser halten“ (p. 56). Von Versuchen, Dauerpräparate als Belege seiner Resultate aufzuheben wie EHRENBERG es that, findet sich in der hier besprochenen Arbeit SCHWANN's keine Erwähnung.

Aber gerade die Veränderungen, welche das Wasser in den Geweben hervorruft, wurden gegen die Schwierigkeit, die beim Beobachten durch die optische Beschaffenheit der einzelnen Bestandtheile, durch ihre von Haus aus so geringe optische Differenzirung verursacht wird, bereits sehr gut verwerthet. So wird u. A. bemerkt, dass die Kerne nach Einwirkung von Wasser auch in den Knorpelzellen allmählich auftauchen, wo sie anfangs nicht sichtbar gewesen sind (p. 18). Viel wichtiger jedoch in dieser Hinsicht ist der ausgedehnte Gebrauch, den SCHWANN von der Essigsäure zum Hervortretenlassen des Kernes macht. Es wird als eine allgemeine Eigenschaft der Zellkerne hingestellt, auf Zusatz von Essigsäure deutlich zu

werden. Von den Muskelfasern wird z. B. berichtet, dass ihre körnige Beschaffenheit die genaue Untersuchung des Kernes erschwert. „Bringt man aber einen Tropfen Essigsäure hinzu, so wird die Faser ganz durchsichtig und schwillt auf; die Kerne dagegen bleiben dunkel, schrumpfen ein wenig zusammen und lassen sich jetzt vollkommen unterscheiden" (p. 160)[1]. Eine zur Zeit von SCHWANN ebenfalls bekannte künstliche Differenzirung anderer Art ist die von VALENTIN entdeckte Einwirkung von Aetzkali auf die elastischen Fasern, bei welcher sie in noch feinere Fibrillen zerfallen (SCHWANN, p. 151). — Wasser, Essigsäure und Aetzkali sind überhaupt die wichtigsten Hilfsmittel der mikroskopischen Analyse bis weit in die zweite Periode hinein geblieben[2]. Auch die Wirkung verschiedener Beleuchtungsweisen (schwarzer Grund, gedämpfte Beleuchtung etc.) auf die Erkennbarkeit der Structuren erwähnt hie und da SCHWANN; das polarisirte Licht, in der Mikroskopie bereits seit 1816, zuerst durch BREWSTER angewandt (HAR-

---

[1]) Auch die macerirende Wirkung der Essigsäure, sowohl als auch der concentrirten Schwefelsäure hat SCHWANN zum Isoliren der Zellen des Nagelgewebes verwerthet: p. 90.

[2]) Zu diesen Mitteln gesellte sich schon lange vor SCHWANN und SCHLEIDEN bei den Botanikern das Jod, hauptsächlich als sicherer Nachweiser der Amylumkörner. Auch der Säuren, zum Beispiel zum Durchsichtigmachen des Pollens, haben sich die Botaniker schon lange bei ihren mikroskopischen Analysen bedient. Bereits 1817 hat SPRENGEL den Pollen der Passionsblume mit Salpetersäure behandelt; später 1832 hat JULIUS FRITZSCHE ausgedehnte Untersuchungen über den Pollen nach Behandlung mit Salzsäure, oder, da deren Dämpfe das Mikroskop stark angreifen, besser mit Schwefelsäure, veröffentlicht. — Die Methode siehe bei FRITZSCHE auf p. 2-3. — Seit wann übrigens die Essigsäure in der Mikrotechnik im engeren Sinn gebraucht wird, weiss ich nicht. Die chemische Untersuchung von Theilen der Lebewesen mit den verschiedensten Reagentien ist nämlich schon ziemlich alt, und oft wurden solche Untersuchungen unter dem Mikroskop gemacht, weshalb auch die verschiedenen „Protectoren" z. B. GORINGS Protector von 1830 (HARTING [1] III. Bd. p. 402) nothwendig geworden sind. Auch bei SCHWANN wird die chemische Beschaffenheit verschiedener Gewebe erörtert.

Endlich war auch der Umstand schon bekannt, dass die Härtung in starkem Weingeist zarte Körpertheile der Thiere auch optisch auffälliger zu machen im Stande ist. In seinem auf Seite 48 in Anmerkung 1 bereits citirten Referat sagt WIEGMANN (p. 8.), von der Entdeckung der Organisation der Infusionsthiere durch EHRENBERG redend, dass sie uns davor warnen „die Existenz von Muskelfasern und Nerven voreilig da zu leugnen, wo sie dem Messer oder der allerdings sehr erhöhten Schärfe unserer optischen Instrumente bisher sich entzogen. Man denke nur an die Zartheit der erst nach Erhärtung im Weingeiste schärfer begrenzten Nerven bei den Acephalen, und man wird diesen Skepticismus begründet finden". — Auch LAURER (Dis-

TING [1] Bd. III p. 329). scheint SCHWANN nicht herbeigezogen zu haben [1].

Endlich hat SCHWANN die bei der Untersuchung eingetretenen Erscheinungen auch mit kritischem Sinne darauf hin geprüft, in wie fern sie auf die natürliche Beschaffenheit des Objectes bezogen werden können. Er weiss sehr wohl, dass auch durch optische Täuschung entstandene Säume als Membranen unter dem Mikroskop erscheinen können (p. 165); er hält die Erscheinungen, welche wir heute als Myelinformationen an den Nerven kennen, bereits für Kunstproducte, „entstanden durch die Einwirkung des Wassers und des Druckes auf die noch zarten Nerven. Wenn nämlich Wasser durch die Zellmembran durch Imbibition durchdringt, so zieht sich die ölartige weisse Substanz zu einzelnen abgerundeten Formen um so leichter zurück, je weniger Konsistenz sie hat. Man sieht dies selbst noch an erwachsenen Nerven oft“ etc. (p. 176) [2].

---

quisitiones anatomicae de Amphistomo conico. Gryphiae 1830) benutzt bei seinen Untersuchungen über Helminthen verschiedene Flüssigkeiten, z. B. heisses Wasser, Säuren u. s. w., wodurch er die zarten, wenig in die Augen fallenden Theile dieser Thiere gerinnen lässt und so sichtarer macht. NORDMANN (Mikrographische Beiträge zur Naturgeschichte der wirbellosen Thiere, Berlin 1832) „befestigte die mit dem Mikroskope zu untersuchenden Thierchen mittelst Gummi arabicum auf eine Glasplatte, und deckte ein feines Marienglasplättchen darüber, wodurch die Thierchen jedenfalls etwas abgeplattet und ihre inneren Theile deutlicher hervorgehoben wurden“. Das ist also bereits eine Methode des künstlichen Durchsichtigmachens ohne vorheriges Austrocknen des Objectes. (Letztere beiden Daten sind aus der auf Seite 48 in der Anmerkung 2 citirten Arbeit SIEBOLD's entnommen). TREVIRANUS hat das Auge, namentlich die Linse und die Retina, in Weingeist gehärtet: G. R. TREVIRANUS, Ueber die Krystalllinse, 1835, S. 65. — MICHAELIS benutzte zu demselben Zwecke 1838 Salpetersäure (nach HEINRICH MÜLLER [1] p. 5).

[1]) Ebenso wenig hat er sich damals, wie es scheint, irgend eines Mikrotoms bedient, obwohl schon mehrere (das erste von ADAMS aus 1770), so von CUMMING, CUSTANCE, QUEKETT bekannt waren. (HARTING [1] Bd. III p. 407). Allerdings hätte er diese, welche lediglich zum Schneiden harter Gegenstände z. B. von Holz, eingerichtet waren, auch nicht gut brauchen können. Ueberhaupt ist die richtige Zeit der Mikrotome erst mit den modernen Einbettungsverfahren gekommen; doch hierüber unten mehr!

[2]) Was die von SCHWANN benutzten Vergrösserungen anlangt, so erwähnt er wiederholt eine 450fache, wahrscheinlich die stärkste, welche er mit Vortheil anwenden konnte. — Dass die Grösse des mikroskopischen Bildes über gewisse Grenzen hinaus nichts hilft, wusste die Zeit SCHWANN's sehr gut. Der bereits citirte Botaniker FRITZSCHE (p. 2.) sagt, bei 240maliger Linearvergrösserung gearbeitet und von stärkeren (bis 1100maligen) Vergrösserungen nur grössere Bilder, indess ohne Gewinn für die Erkennung der Structur, erhalten zu haben.

So war die Mikrotechnik Schwann's bei seinen Untersuchungen, deren Resultate in seinem Grund- und Hauptwerke niedergelegt sind; und offenbar ist seine Mikrotechnik die beste und vielseitigste, welche damals nur möglich war. Ich habe Abhandlungen verschiedener anderer Autoren aus dieser Zeit, so von Siebold, Rathke, Milne-Edwards, Johannes Müller, Valentin, Purkinje etc., welche mir zugänglich sind, durchsucht, aber keine mikrotechnischen Methoden und Mittel gefunden, welche nicht bereits im Obigen erwähnt wären. Und so glaube ich auch zur zweiten Periode in der Geschichte der Mikrotechnik übergehen zu können.

Drittes Kapitel.
Zweite Periode.

§ 8.

Die Einschlussmedien. Die Technik des Aufbewahrens.

Diese Periode werde ich hier verhältnismässig kürzer behandeln, als die vorhergehende, weil die für sie bezeichnenden Methoden, mit Recht oder Unrecht, grösstentheils auch heute gebräuchlich sind und deshalb im geschichtlichen Theil der weiteren Abschnitte eingehender behandelt werden; auch für genauere Litteraturangaben über das Meiste des schon hier zu Erwähnenden verweise ich auf jene. Da es jedoch dem Leser schwer fallen würde sich aus den dort zerstreuten Angaben ein einheitliches Bild von der Technik dieser und der folgenden Periode zu verschaffen und so den grossen Fortschritt, den unsere heutige Technik bedeutet, gehörig zu würdigen, so wird es vielleicht doch nicht überflüssig sein, vorher auch diese Periode in den einzelnen Zweigen der Mikrotechnik kurz zu charakterisiren.

Wir datiren die zweite Periode deshalb vom Ende der dreissiger oder vom Anfang der vierziger Jahre, weil in diesen Jahren die ersten flüssigen und auch flüssig bleibenden Einschlussmedien in die Wissenschaft eingeführt wurden, welche, um das mikroskopische Präparat zum Dauerpräparate zu machen, nicht mehr ein vorheriges Trocknen an der Luft erforderten.

Getrocknete Präparate wurden schon vor langer Zeit mit verschiedenen Firnissen bestrichen, damit sie dauerhafter werden; so hat, wie bereits erwähnt, Swammerdam aufgeblähte Insecteneingeweide, später Lieberkühn Injectionspräparate behandelt. Pritchard hat auch bei anderen getrockneten Präparaten Terpentinfirniss verwandt. Viel wichtiger als diese Firnisse in ihrer damaligen Verwendung wurde der

Canadabalsam, den Bond auf Rath von J. F. Cooper 1832 zuerst benutzte, jedoch erst 1835 Pritchard publicirte. (Harting [1] Bd. III p. 418). Nur hat die erste Gebrauchsweise des Canadabalsams demselben beinahe gar keinen Vorzug über den Lufteinschluss gesichert, da das Object doch erst an der Luft getrocknet werden musste und man dazu den Balsam noch meist vorher erhitzte, um ihn beim Gebrauch flüssiger zu machen, sein Erstarren jedoch zu beschleunigen. Für die meisten Objecte war der Lufteinschluss entschieden vorzuziehen, da in Balsam sogar das Wenige, was von der feineren Structur noch sichtbar geblieben war, infolge der starken Lichtbrechung ausgelöscht wurde, abgesehen davon, dass die Objecte, welche nicht von Haus aus so hart waren, wie z. B. Knochen, Chitinpanzer, Kiesel- und Kalkschalen etc., nur im Falle ihres absoluten Trockenseins nicht ganz zu Grunde gingen. So ist auch die Aussage Ehrenberg's vollkommen verständlich, obwohl sie auf „fossile Bacillarien", auf welche sie sich bezieht, noch am wenigsten passt, dass sie sich „in Oelen und klaren Balsamen" „für eine längere kürzere Zeit" zwar erhalten und „wie im Wasser" sehr schön sichtbar sind, allein mit der Zeit trocknet das Einschlussmedium ein und verdirbt das Object (p. XVII).

Die noch unentwickelte Technik der Anwendung der Balsame als Einschlussmedien verursachte, dass sie bis weit in diese Periode hinein nur in ganz beschränktem Grade und nur in gewissen Fällen mit wirklichem Vortheil gebraucht werden konnten. Erst durch radicale Aenderungen in der ganzen Fixirungs- und Conservirungstechnik konnte das Montiren und Untersuchen der vorher nicht zu trocknenden Präparate in Balsamen jene Wichtigkeit, welche sie gegenwärtig besitzt, bekommen. Die Möglichkeit, nicht getrocknete Objecte in Canadabalsam aufbewahren zu können, war, obwohl das Entwässern in Alkohol absolutus und Aufhellen in Terpentinöl vor dem Einschluss schon 1851 durch Lockhart Clarke [1] für Gehirn- und Rückenmarkspräparate empfohlen wurde, gegen die Mitte der sechziger Jahre noch sicher nicht auch für andere Objecte allgemein bekannt. Sonst würden wir bei Beale, der in der Mikrotechnik zu dieser Zeit noch ziemlich beschlagen ist, 1868 kaum Folgendes lesen können: „Sämmtliche in Canadabalsam einzuschliessenden Präparate müssen vorher gänzlich getrocknet werden. Das Austrocknen muss bei einer nicht höheren Temperatur als 100 bis 200 Grade geschehen" (nach Fahrenheit)[1].

---

[1]) „All preparations to be mounted in Canada balsam must be thoroughly dried first. The desiccation must be effected by a temperature of not more than from 100 to 200 degrees, etc." (Beale [1] p. 76). Dagegen finden wir

Die ganze Methodik BEALE's, welche bei der Behandlung vorher nicht getrockneter Gewebe auf einer Durchtränkung mit Glycerin basirt, schliesst ein Aufheben derselben in Canadabalsam oder in irgend einem anderen Lack oder Firniss vollkommen aus. (BEALE [1] besonders Seite 290-307: New method of preparing specimens for researches with the aid of the highest magnifying powers yet made. In der Auflage von 1880 p. 357-372 sind dieselben Methoden wörtlich wiederholt, obwohl sie bei der damaligen Entwickelung der Schnittmethode absolut keinen Sinn mehr hatten.)

In seiner hier citirten vierten Auflage von 1868 ist Alkohol als Mittel des Wasserentziehens unter den allgemeinen Methoden, obwohl die Methode von CLARKE als specifische Methode der Untersuchung des Centralnervensystems der Wirbelthiere eingehend mitgetheilt wird (p. 144-146)[1], gar nicht erwähnt und spielt bei ihm blos als Conservirungsmedium für anatomische Präparate und als Bestandtheil seines Carmins eine Rolle. In diesem wirkt er jedoch, obwohl in einer von BEALE nicht beabsichtigten Weise, bei seiner Universalmethode auch als Fixirungsmittel, indem er das Eiweiss schon in der dort vorgeschlagenen Stärke, sobald Säure zugesetzt wird, coagulirt, worauf wir noch zurückkommen werden.

So kann man sich über die Anschauung vielleicht sämmtlicher Mikrographen der Periode bis in ihr letztes Decennium hinein gar nicht wundern, dass Glycerin für weiche Gewebe das ist, was Canadabalsam für harte (BEALE, HARTING, FREY u. m. A.) und dass Glycerin

---

in der dritten Auflage des Mikroskops von FREY (1868) auf Seite 109 und 110 das Wesentlichste für die Vorbereitung des nicht zu trocknenden Objectes zum Einschluss in Canadabalsam bereits mitgetheilt. Für 1868 waren also seine diesbezüglichen Vorschriften noch sehr modern. Um so veralteter, geradezu naiv kommen uns diese Wort für Wort wiederholten kleinen Kunstgriffe FREY's in seiner achten Auflage von 1886 vor (S. 147 und 148). — Auch in der deutschen Ausgabe von HARTING (1866) wird das Entwässern und „Aufhellen“ (Anwendung der Vormedien des Einschlusses) zwar erwähnt, aber nicht sehr viel Gewicht darauf gelegt (Bd. II p. 300).

[1]) Auf p. 146 hebt BEALE sogar ausdrücklich hervor, dass es das Princip dieser Methode ist, den Spiritus durch Terpentin zu ersetzen, und dieses durch den Canadabalsam, ohne die Schnitte zu trocknen. Auch setzt er folgende, für seine eigene Kenntniss der Methode äusserst bezeichnende Worte hinzu: „The method at first is attended with some difficulty, and practice is necessary to ensure complete success. Experience, also, may suggest, according to circumstances, certain modifications of the exact process here given, which, to a certain extent, must be considered as general“. Leere Phrasen, welche die Unerfahrenheit in der Methode schlecht verhüllen.

als das eigentliche Einschlussmedium des Histologen zu betrachten ist, zu welchem er, sobald es sich um feinere Structurverhältnisse handelt, greifen muss. Da man nämlich eine künstliche, hauptsächlich durch Färbung ins Auge stechende Differenzirung der feineren Structurelemente nur zum Theil erzielen konnte, so war man lediglich auf die natürlichen Lichtbrechungsdifferenzen derselben angewiesen um sie überhaupt wahrnehmen zu können; und da diese bei dem (wenn auch durch Entwässern und Durchtränken mit einem Vormedium vermittelten) Einschluss in Balsam wegen dessen stärkerer Lichtbrechung verschwanden oder wenigstens viel weniger auffallend wurden, so musste der Balsam für histologische Zwecke auch weniger geeignet erscheinen.

Kurz, der Balsam spielt in den mikromorphologischen Untersuchungen der zweiten Periode, ihr letztes Decennium, die siebziger Jahre, natürlich schon ausgenommen, eine noch ziemlich untergeordnete Rolle, und deshalb konnten wir den Anfang dieser Periode erst von dem Emporkommen der wässrigen oder wenigstens nicht harzigen Einschlussmedien datiren. Von Einschlussmedien überhaupt aber, weil der Zweck der Anwendung derselben damals nicht nur das Einschliessen in dem heutigen Sinne war, sondern gleichzeitig auch das Fixiren und Conserviren, ja sogar meist auch das Differenziren, insofern ein solches erfolgte. Wenn wir also, besonders im ersten Drittel der Periode, die Einschlussmedien besprechen, so haben wir das Wesentlichste auch über die Fixirungs-, Conservirungs- und Differenzirungstechnik mitgetheilt.

Der Erste, welcher ein Mittel ausfindig machte, um nicht getrocknete Objecte bleibend flüssig aufzubewahren, war 1839 Goadby mit seiner universalen Conservirungsflüssigkeit. Sie machte besonders in England grosses Aufsehen, und die Goadby'schen Präparate wurden ein Stolz der englischen Mikrographen, anfangs wenigstens, als man noch nicht wissen konnte, was aus ihnen mit der Zeit wird. Jetzt hingegen wissen wir, dass die Goadby'sche Flüssigkeit ebenso wenig, wie andere Lösungen, welche Sublimat enthalten, zum dauernden Einschluss mikroskopischer Präparate geeignet ist (s. Abschnitt V und XIV).

Dennoch kann man sagen, dass seine Erfindung in der Mikrotechnik Epoche machte, denn durch sein Beispiel wurde die Ueberzeugung allgemeiner verbreitet, dass man auch anders, als durch Trocknen an der Luft Lebewesen und deren Theile für mikroskopische Untersuchung aufbewahren kann, ja, dass man dies auf feuchtem Wege sogar besser kann.

Der Erfolg der flüssigen Conservirungsmedien hatte aber auch

seine schlechte Seite. Die Forscher haben sich nämlich auf lange Zeit der bequemen Ansicht hingegeben, es genüge das Object — am besten ganz frisch und höchstens durch Zerlegen resp. Ausbreiten, womöglich durch blosses Comprimiren, in gehörig dünnen Schichten der mikroskopischen Untersuchung zugänglich gemacht — mit der Flüssigkeit einfach zu durchtränken und darin mit einem passenden Rahmen, welcher Objectträger und Deckglas miteinander luftdicht vereinigt, einzuschliessen. In dieser Weise sollten die natürlichen Structurverhältnisse, bis auf die feinsten histologischen Einzelheiten, unbegrenzte Zeit aufbewahrt werden können.

Der unbefangenere Theil der Forscher jener Zeit, auch abgesehen von den Skeptikern, welche von keinem künstlichen Eingriffe, ausser mit Messer, Scheere, Nadel und Compressorium, irgend etwas Gutes erwarteten, modifizirte jene Ansicht dahin, dass nur ein gewisser Theil der natürlichen Eigenschaften in den Dauerpräparaten zu erhalten ist, und dass man sich deshalb die richtige Erkenntniss der Verhältnisse für wissenschaftliche Zwecke immer erst an Momentpräparaten bei möglichst vielseitigem Prüfen durch Reagentien verschaffen muss. Sie wollten die Technik der Dauerpräparate am liebsten den fabrikmässigen Erzeugern von mikroskopischen Präparaten überlassen und hielten von manchen wichtigsten Neuerungen, u. A. vom Einbetten und von den Mikrotomen, dass sie nur dazu gut seien, mikroskopische Cabinetstücke herzustellen, welche man von Liebhabern theuer bezahlen lassen kann. Das ist das zweite wesentlichste Vorurtheil der Periode, welches von den Publicationen der selbständig arbeitenden Mikromorphologen auch in die mikrotechnischen Hand- und Lehrbücher übergegangen ist und sich hier als ein rother Faden durch die ganze Periode durchzieht.

Gleich am Anfange der zweiten Periode entstehen nämlich mehrere Werke, welche die Mikrotechnik zu ihrem besonderen Gegenstand machen. Wohl hat es an Werken, welche die nothwendigen Manipulationen des Mikroskopikers behandeln, auch in der ersten Periode nicht gefehlt, jedoch wird in diesen die Mikrotechnik entweder blos als methodologische Einleitung behandelt (so bei Hooke 1665, beim Botaniker J. Hedwig 1798, bei Ehrenberg 1838) oder an der Hand der einzelnen wissenschaftlichen Resultate (Leeuwenooek 1695, Joblot [2] 1754, Gleichen 1778) oder von „mikroskopischen Gemüths- und Augenergötzungen“ (Ledermüller [1] 1761 und [2] 1778); ja, auch die speciell dem Mikroskope gewidmeten Schriften wollen neben der Theorie und Beschaffenheit desselben lediglich seine Handhabung

bei Untersuchungen lehren, viel weniger aber die Behandlung des Objectes selbst, da man ja damit auch beinahe nichts anzufangen wusste, um es für feinere mikroskopische Arbeiten künstlich geeigneter zu machen. (Grindel von Ach 1687, Bonannus 1691, Joblot [1] 1716, Baker [1] 1742 und [2] 1753, Mayen 1747, Adams 1747, Senebier 1775, J. F. W. Koch 1803, Brewster 1837, Chevalier 1839.)

Berühmtere mikrotechnische Lehr- und Handbücher schrieben in der zweiten Periode: J. Vogel 1841, Dujardin 1842, H. v. Mohl 1846, Quekett 1848, Robin 1849, Harting [2] (die erste holländische Ausgabe in 3 Bänden) 1848-1854, Schacht 1851, Carpenter [1] 1856, Hogg [1] 1854, Beale 1857, Frey 1863, Harting [1] (die deutsche Originalausgabe) 1866, Nägeli und Schwendener 1867, Dippel 1867-1872, Ranvier 1875, Schäfer 1877. Diese Werke sind später in mehreren Auflagen erschienen und haben die Mikrotechnik der Periode beherrscht.

Sie spiegeln gewiss getreu den Stand der Mikrotechnik in ihrer Zeit wieder, wenigstens ihre ersten Auflagen, wo die Autoren die ziemlich langsamen Fortschritte der Technik zu verfolgen noch im Stande gewesen sind; und es wäre auch ein Unrecht, manche nach ihren letzten Auflagen beurtheilen zu wollen. Wenn man aber von unserem gegenwärtigen Standpunkte aus die älteren der aufgezählten Werke durchstudirt und mit einander vergleicht, so fallen einem hauptsächlich zwei Dinge auf. Erstens sieht man, wie arm an Mitteln die Mikrotechnik noch war, und wie verkehrt auch die vorhandenen Mittel in vielen Beziehungen angewendet wurden. Zweitens sieht man, wie wenig sich die meisten Autoren beim Niederschreiben gewisser Vorschriften denken und wie wenig Selbständigkeit sie in ihren Lehrbüchern entfalten. Es herrscht ein nicht geringer Conservativismus in ihnen, eine Art Scheu vor Neuerungen nebst Misstrauen gegen fremde Resultate, abgesehen von denen einiger grössten Autoritäten, deren Vorschriften, Ideen und Urtheile getreu hergesagt werden, und zwar Jahrzehnte lang, von einer Auflage nach der anderen. Die Werke, deren Autoren sich mehr mit thierischer Morphologie beschäftigen, schöpfen ihre Ideen und Urtheile hauptsächlich aus Beale, die von Botanikern verfassten besonders aus Mohl und Harting; einige aus erster, andere blos aus zweiter Hand.

Dieselbe Genügsamkeit, um nicht zu sagen Unbeholfenheit, in technischer Hinsicht zeigen die allerbesten, in Bezug auf die Erkenntniss der feineren Bauverhältnisse der Lebewesen allerdings erfolgreichsten Originalarbeiten der Mikromorphologen; was jedoch nicht als Ge-

ringschätzung ihrer Technik, sondern als Beweis für die grossen Fortschritte unserer gegenwärtigen Technik gelten mag.

Wollen wir nun das eben Gesagte an der Mikrotechnik der zweiten Periode besonders erläutern, so müssen wir zunächst zu den conservirenden Flüssigkeiten zurückkehren.

Die Goadby'sche Flüssigkeit ist im Wesentlichen eine sehr dünne Sublimatlösung, ungefähr ein Gewichtstheil Sublimat auf 10000 Theile Wasser, mit etwa 10 % Kochsalz und 5 % Alaun. Das eigentlich conservirende Princip ist hier das Sublimat gewesen, welches dem Präparate die grössere Dauerhaftigkeit verleiht, es aber für mikroskopische Untersuchung allmählich auch untauglich macht[1]. Sublimat zerstört oder verhindert jedes organische Leben sogar in noch grösserer Verdünnung und schützt so gegen Fäulniss und Schimmelbildung, welche das Kochsalz und der Alaun nicht verhindern würden; letztere verhüten aber bis zu einem gewissen Grade die deformirende Wirkung des Wassers auf die Structurelemente.

Unzufrieden mit den Resultaten, welche mit seinem Liquor bei verschiedenen Thieren erzielt wurden, änderte Goadby selbst wiederholt die Zusammensetzung, indem er bald den Salz- und Alaungehalt auf die Hälfte reducirte, bald den Salzgehalt auf das Doppelte steigerte, den Alaun aber ganz wegliess. Die Wirkung der Flüssigkeit erlitt dadurch natürlich nur unwesentliche Modificationen; ihre Vortheile und Nachtheile blieben dieselben; und obwohl sie von manchen hervorragenden Forschern für gewisse Fälle gelobt wurde, einigte man sich bald darin, dass sie für die (in unserem Sinne) mikroskopischen Dauerpräparate nicht viel tauge. Auch hat man seit den fünfziger Jahren mit demselben wirkenden Princip verschiedene andere Conservirungsflüssigkeiten zusammengestellt; mit solchen ist besonders Pacini's Name verbunden. In diesen ist der Alaun vollkommen weggelassen, das Kochsalz auf etwa 4 Promille reducirt oder auch ganz weggelassen und an seine Stelle ein wenig, etwa 2 Promille, Essigsäure gesetzt; dagegen steigerte man den Sublimatgehalt gegen den der Goadby'schen Flüssigkeiten schon wesentlich. Das kochsalzhaltige Pacini'sche Gemisch enthält etwa 2 Promille, das essigsäurehaltige blos 1 Promille Sublimat, beide mit einem geringen Glycerinzusatz, ersteres von etwa 2·5 Procent, letzteres von etwas mehr als 4 Procent[2].

---

[1]) Cfr. Abschnitt XIV.

[2]) Berechnet nach den Vorschriften, welche in den verschiedenen Auflagen von Frey von der zweiten an, gegeben sind (in der dritten Auflage, 1868 auf p. 112, in der 8. Auflage 1886 auf p. 151). Bei Harting [1] ist für

Es ist sehr bezeichnend für jene Zeit, wie ausserordentlich genau die Zusammensetzung solcher Flüssigkeiten von den Autoren vorgeschrieben ist, als ob auf einige Zehntel Promille der vorgeschlagenen Ingredienzien etwas ankommen würde. Ist es doch evident, dass in dem ersten von den beiden PACINI'schen Gemischen das Glycerin, und in dem zweiten neben dem Glycerin auch die Essigsäure keine wirkliche Bedeutung hat, da von beiden zu wenig vorhanden ist, um die zerstörende Eigenschaft des Wassers auf die todten Gewebselemente und die trübende Wirkung des Sublimats auf dieselben (ein Nachdunkeln) zu paralysiren.

Am reellsten sind unter diesen sublimathaltigen Conservirungsflüssigkeiten, welche wir als die erste Classe zusammenfassen wollen, noch jene Vorschriften, welche, wie die von HARTING, nur das Sublimat behalten, es aber in einer Concentration von 1 zu 200 bis zu 500 vorschlagen, jedoch auch nur für ganz besondere, wenige Fälle (HARTING [1] Bd. II p. 300). Indess auch für diese eignet sich die Sublimatlösung, als Aufbewahrungsmedium, für die Dauer nicht, wohl aber als Fixirungsmittel in der richtigen Weise angewandt: eine Wahrheit, welche erst am Ende der zweiten Periode hat erkannt werden sollen. Bis dahin haben die stärkeren reinen Sublimatlösungen, gerade weil man in ihnen auch dauernd einschliessen wollte, einen immer schlechteren Ruf bekommen, wogegen die schwächeren, mit anderen Substanzen gemischten, weil sie das Object beim Dauereinschluss langsamer zu Grunde richten, sich z. Th. bis auf heute gehalten haben.

Das verwerfendste Urtheil über die Sublimatsolutionen als Conservirungsmedien, namentlich über die GOADBY'sche Flüssigkeit, hat eigentlich der Botaniker RECKITT [1] (p. 242) schon in den vierziger Jahren (1845) dadurch ausgesprochen, dass er behauptete, gewöhnliches Wasser verdiene beim Conserviren von Pflanzenpräparaten vor der GOADBY-schen Flüssigkeit den Vorzug. Und so ganz Unrecht hat er auch nicht gehabt; in Wasser eingeschlossen gehen die mikroskopischen Präparate blos etwas rascher zu Grunde, Manches ist aber darin eine Zeit lang ebenso gut, wie in Sublimatsolutionen zu untersuchen.

Ihre Verdienste um die Fortschritte der Mikromorphologie hatten jene schwachen Sublimatsolutionen, abgesehen von dem Verdrängen der in Luft eingeschlossenen Präparate aus den Sammlungen der Forscher, nichts desto weniger, und zwar dadurch, dass sie für sehr viele Gegen-

---

die zweite Flüssigkeit nicht 43 Thle. Glycerin, sondern blos 13 Thle. angegeben (Bd. II p. 303). LEE citirt die bei FREY angegebene zweite Formel in allen seinen Auflagen falsch mit 115 Thln. Wasser anstatt 215 (3. Aufl., 1893 p. 237; 1. Aufl., 1885 p. 229).

stände bessere Untersuchungsmedien sind als das Wasser oder die physiologische Kochsalzlösung, welche weniger differenziren und die Untersuchung oft auch weniger lange ohne auffallendere Veränderungen des Präparates fortzusetzen gestatten. Anfangs heben sie nämlich manche, für jene Zeit schwierig zu entziffernde Verhältnisse eben wegen des beginnenden Verdunkelns, welches in verschiedenen Elementen der Gewebe verschieden rasch vor sich geht, sehr deutlich hervor. Später freilich verhüllen sie sie dafür ganz oder vermögen sie von dem Zugrundegehen nicht zu schützen, wie die äusseren Formen der Zellen und die mikrotopographischen Beziehungen der Gewebsbestandtheile, welche sich in ihnen wirklich viele Jahre lang erhalten können.

In der zweiten Classe von Conservirungsflüssigkeiten (der leichtflüssigen, dünnen), welche wir hier aufzählen wollen, ist entweder a) der Zusatz von Kreosot, Carbolsäure, Kampher, Alkohol oder aber b) die grössere Concentration der Lösung eines Salzes (Chlorcalcium, kohlensaures Kali, essigsaures Kali, arsenigsaures Kali, Chlornatrium, doppeltchromsaures Kali eventuell mit schwefelsaurem Natron, Wasserglas etc.), einer Säure (Essigsäure, Holzessig, Chromsäure, arsenige Säure, Salicylsäure etc.) oder von Alkalien (besonders Aetzkali und Natron) das conservirende Princip.

Die Flüssigkeiten der Gruppe a) dieser Classe haben, da ja der Alkohol allein in seinen verschiedenen Verdünnungen doch immer wenig als mikroskopisches Einschlussmedium benutzt wurde, weil man keinen befriedigenden Verschluss für ihn auffinden konnte, nie eine grössere Rolle gespielt. Eine der ältesten ist wohl (1844) das Thwaites'sche [**1**] Fluidum in seiner ersten Form: 1 Theil Alkohol zu 12 Theilen Wasser mit so viel Kreosot, wie sich im Alkohol löst (p. 104), wozu nach Beale ([**1**] p. 55 und [**2**] p. 65) noch Kreide „chalk, as much as may be necessary" und Kampher kommt. Manche von ihnen sind ganz nutzlos, so z. B. die eine Topping'sche Flüssigkeit aus den fünfziger Jahren, welche aus nichts Anderem als aus 1 Theile Alcohol absolutus auf 5 Theile Wasser besteht. Alkohol fixirt nämlich zwar in gewisser Hinsicht auch bei einer so starken Verdünnung, indem er Eiweiss allmählich noch coagulirt; aber eine conservirende Eigenschaft hat er keineswegs, da er die schädlichen osmotischen Eingriffe der Flüssigkeit auf das Object nicht verhindert, welches daher stark macerirt wird.

Dasselbe gilt von der Mehrzahl der in Gruppe b) dieser Classe gehörenden, vielfach empfohlenen Flüssigkeiten. Und doch wurden diese von einem Buch in das andere, von einer Auflage auf die andere immer wieder übertragen und angelegentlich empfohlen, ohne zu prüfen, ob

sie auch wirklich leisten konnten, was sie bezweckten. Dafür wurden sie aber von den besseren selbständigen Forschern allmählich vollkommen ad acta gelegt.

Zu Anfang der vierziger Jahre werden als Conservirungsflüssigkeiten dieser Ordnung erwähnt (und zwar u. A. von Oschatz 1841 und 1843, von Pappenheim 1843, von Purkinje 1844) Wasser, Lösungen von Kochsalz, kohlensaurem Kali, Aetzkali, Essigsäure und arseniger Säure. Diese sind aber, mit Ausnahme des kohlensauren Kalis und der arsenigen Säure, welche in gesättigter Lösung empfohlen wurden, bereits wichtige differenzirende Zusatzflüssigkeiten der vorhergehenden Periode, und wirkliche Dienste leisteten sie der Wissenschaft auch später nur in dieser Weise. Dagegen hat als Aufbewahrungsmedium eine gewisse reelle Bedeutung die gesättigte Chlorcalciumlösung, welche ebenfalls zu dieser Zeit zum ersten Mal verwendet wurde: Harting sagt ([**1**] Bd. III p. 420), dass er sie seit 1841 benützt. Ebenso die von dem Ende der fünfziger Jahre datirende Müller'sche Flüssigkeit, welche Kali bichromicum zuerst in einer zur Conservirung genügenden Menge enthält. Während sich aber die pflanzliche Mikromorphologie vorwiegend des Chlorcalciums zum Aufbewahren bediente, spielten in der thierischen eine Zeit lang die Lösungen von Kali bichromicum die grösste Rolle. Dem letzten Decennium der Periode gehört die Anwendung des Kali aceticum für thierische Gewebe (empfohlen 1871 von M. Schutze [**6**]) an, welches in die Pflanzenhistologie bereits 1863 durch Sanio eingeführt wurde.

Die oben besprochene erste und die zweite Classe von Conservirungsmitteln waren besonders für die erste Hälfte dieser Periode, nämlich die vierziger und fünfziger Jahre charakteristisch; dagegen ist für die sechziger Jahre der wichtigste Repräsentant der dritten nun folgenden Classe von Conservirungsmedien (der schwerflüssigen, dicken), nämlich das Glycerin, bezeichnend. Das Glycerin fand unter den gebräuchlichsten Medien der vorhergehenden Decennien blos in der Chlorcalciumlösung einen mächtigen Rivalen. Die Botaniker gaben bis zu Ende der sechziger Jahre noch immer dem Chlorcalcium den Vorzug; aber in der thierischen Mikrotechnik kann man in Betreff der Aufbewahrungsmedien die sechziger Jahre wohl mit Recht durch die Herrschaft des Glycerins bezeichnen. Dagegen könnte man die siebziger Jahre in dieser Beziehung vielleicht schon die Zeit des Canadabalsams, resp. anderer harziger Medien, nennen.

Die Benutzung des Glycerins datirt aber keineswegs erst von den

sechziger Jahren, ebensowenig wie die des Canadabalsams von den siebzigern. Das Glycerin hat ein gewisser Warrington („of Apothecaries' Hall“ : Beale [1] p. 54 und [2] p. 64) in den vierziger Jahren in die Wissenschaft eingeführt. Es fand besonders bei den Engländern, wo es zuerst in einer reinen und concentrirten Qualität als das sogenannte Price's patent glycerine zu haben war, bald eine vielseitige Verwendung in der Mikrotechnik. In der methodologischen Einleitung zur dritten in 1849 erschienenen Auflage von Schleiden [2], wo die „vorzüglichsten“ chemischen „mikroskopischen Reagentien“ auf Seite 120 aufgezählt werden, wird das Glycerin noch nicht erwähnt.

Aber auch viel später, bis zum Ende der fünfziger Jahre, wird das Glycerin von den besten Forschern des Continents gar nicht benützt. Zum Aufhellen greifen sie zu verschiedenen Säuren (namentlich Essigsäure) und Natron oder Kali causticum. Zum Aufbewahren benutzte man neben den Lösungen von Kali bichromicum noch bis in die sechziger Jahre hinein mit Vorliebe die gesättigte Lösung von arseniger Säure. Erst in den sechziger Jahren kam das Glycerin, welches von Quekett schon 1848 sehr empfohlen worden war, auch bei den deutschen Forschern in Aufnahme, um allerdings bald alle übrigen Aufhellungs- und Einschlussmedien in den Hintergrund zu drängen.

Mittlerweile hatte Beale eine ganz besondere Technik zur Untersuchung feiner Structuren mit den stärksten Vergrösserungen auf die Einwirkung des Glycerins auf die Gewebe gegründet, sie seit 1860 in verschiedenen Schriften (namentlich über Nerven- und Muskelgewebe) mit manchen Modificationen mitgetheilt und in der 1864 erschienenen dritten Auflage seines „How to work with the Microscope“ zusammengefasst, ausführlich begründet und angelegentlich empfohlen (p. 280-307 in [1], in der letzten Auflage von 1880 p. 357-380; die so gewonnenen Resultate über Nerven- und Gangliengewebe s. p. 407-430). Wegen des grossen Einflusses, welchen Beale auf die Mikrographen seiner Zeit, besonders in England, ausgeübt hat, wird es wohl nicht uninteressant sein, die wichtigsten der 7 Punkte, welche nach ihm die „Conditions to be fulfilled in the Demonstrating Minute Structures by the Highest Powers“ ([1] p. 292-293) sind, und welche auf die damaligen Ideen in der Mikrotechnik ein scharfes Licht werfen.

Wie zunächst die mikroskopischen Schnitte jener Zeit beschaffen waren, zeigt der erste Punkt, aus welchem wir erfahren, dass von vielen Geweben Schnitte, die für starke Vergrösserungen genügend dünn gewesen wären, nicht zu erhalten waren.

Zur Entschuldigung der Schneidetechnik der sechziger Jahre

dient allerdings der Umstand, dass die Objectivsysteme, mit welchen Beale seine starken Vergrösserungen erzielte, eine Brennweite von nur $^1/_{25}$ englischen Zoll, ja sogar die allerstärksten nur von $^1/_{50}$ Zoll hatten, also einen Arbeitsabstand, wie sie auf dem Continent nie verfertigt wurden; und dass die gegenwärtigen besten Apochromate von Zeiss wenig unter eine äquivalente Brennweite von $^1/_{16}$" (bis 1·5 mm) gehen.

Für solche Objective und nach unseren heutigen Begriffen waren die damaligen Schnitte, mit welchen sich die besten Forscher begnügten, und welche sie schon sehr fein nannten, viel zu dick. Wie wäre es auch anders möglich gewesen, da doch z. B. Heinrich Müller [1] in seiner oben bereits citirten bahnbrechenden und als mustergültig gepriesenen Retina-Arbeit vom Jahre 1857 sein Verfahren, um „sehr dünne Schnitte" zu erhalten, in der folgenden Weise beschreibt (p. 6): „Ein Stück Netzhaut", welches „wochen- oder monatelang in Chromsäurelösung oder anderen Flüssigkeiten" gelegen hatte, „wird auf den Objectträger gebracht, ein etwas convexes Messer an dessen Seite in senkrechter Lage aufgesetzt und dann in einer wiegenden Bewegung so darüber hingeführt, dass vom Rande ein ganz dünnes Stückchen getrennt wird, welches sich dann umlegt. Wenn man das Messer so hält, dass es sich mit dem Rand des Netzhautstückchens unter einem sehr spitzigen Winkel kreuzt, so wird wenigstens das eine Ende der Schnitte in der Regel dünn genug. Verdünnte Alkalien oder Säuren können dieselben durchsichtiger machen helfen".

Ueberhaupt scheinen die Forscher der sechziger Jahre eine gewisse Abneigung gegen das Schnittemachen gehabt zu haben. Sie haben Alles versucht, um reelle Schnitte zu vermeiden, und in der That haben solche verhältnissmässig sehr wenig zu ihren Resultaten beigetragen. Nur für den feineren Bau des Centralnervensystems haben Schnittpräparate eine grössere Wichtigkeit erlangt. So zog z. B. Max Schultze bei seinen verschiedenen wichtigen Untersuchungen Flächen- oder Ausbreitungs-, Quetsch-, Macerations- und Zupfpräparate den reellen Schnitten stets vor. Um nur Einiges zu erwähnen, so schildert er in seiner Turbellarienarbeit [7], in der ersten histologischen Bearbeitung dieser Thiergruppe, reelle Schnitte gar nicht, in sämmtliche histologische Feinheiten drang er entweder an Compressionspräparaten oder an frisch, sowie nach Macerirung abgerissenen Körperstückchen ein. In seiner dritten Retina-Arbeit [1] (1866), wo er zum ersten Mal das Osmiumtetraoxyd zu diesem Studium herbeizieht, hat er isolirte Retinastücke, welche der Einwirkung der Osmiumtetraoxydlösung ausgesetzt gewesen waren, in Wasser durch Zerzupfen nach der Richtung der Radial-

fasern in Blätter gespalten (p. 270) und sagt von diesen Blättchen, aus welchen sich bei weiterem Zerzupfen die Stäbchen- und Zapfenfasern isoliren lassen, sie seien als natürliche Spaltungsproducte selbstverständlich viel werthvoller als dünne Schnitte, und in dieser Weise habe er alle „nach Ueberosmiumsäure-Präparaten gezeichneten Durchschnittsbilder erhalten“ (p. 184), nachdem ihn weder die nach Härtung in MÜLLER'scher Flüssigkeit gemachten „besten Schnittpräparate durch die Fovea centralis, noch Zerzupfungen unter der Lupe“ nach Macerirung in den von ihm zuerst [5] eingeführten, bis auf $^1/_{50}$ % verdünnten Chromsäurelösungen befriedigt hatten (p. 181, resp. 179). (Untersucht hat er die Osmiumpräparate stets in Wasser und die frischen Retinastückchen in Jodserum, in welchem sie zur Isolirung der Elemente auch macerirt wurden. Glycerin scheint er ganz vermieden zu haben.)

Man kann die sechziger Jahre noch getrost zu dem Zeitalter der Quetsch-Flächen- und Zupfpräparate rechnen; wogegen die siebziger Jahre schon den Uebergang zu unserem Zeitalter der Mikrotomschnitte, d. h. zur dritten Periode der Geschichte der Mikrotechnik bilden. Natürlich gab es auch in den sechziger Jahren, abgesehen von den Untersuchern des Centralnervensystems der Wirbelthiere, welche sich seit der Einführung der Chromsäure (1840) hauptsächlich der Schnittmethode bedienten, Forscher, die ihre Probleme vorwiegend an Schnittpräparaten zu lösen suchten, z. B. 1863 SCHRÖN [1] die Beschaffenheit des Eierstockes der Säugethiere (z. Th. an Schnitten, die nach Härtung in Alkohol- oder Kalibichromicum und „Imbibition nach der GERLACH'schen Methode“ in Balsam eingeschlossen worden waren, p. 411). Andererseits giebt es nicht wenige bedeutende Arbeiten auch aus den siebziger Jahren, bei welchen wir die Schnittmethode, obwohl die Natur des Gegenstandes sie keineswegs ausschloss, dennoch vermissen.

Kehren wir aber zu den BEALE'schen Bedingungen des Gelingens von Präparationen, welche für sehr starke Vergrösserungen geeignet sind, zurück.

Da hinreichend dünne Schnitte nach ihm oft nicht zu erhalten sind, so müssen die eben herstellbaren, um das Präparat doch dünn genug zu machen, einem Drucke, einer „in many instances very strong pressure“ unterworfen werden. In Wasser liegende Gewebe werden aber schon bei einem mässigen Druck oft ganz zerstört; die nöthige Pression kann nur dann bewirkt werden, wenn das Gewebe in ein solches zähflüssiges Medium, („viscid medium“) eingetaucht und davon vollkommen durchdrungen ist, welches sich mit Wasser in jedem Ver-

hältniss und auch mit Chemikalien, deren Wirkung auf das Object in dieser oder jener Hinsicht erwünscht ist, mischt.

Dieses Medium soll die delikatesten und veränderlichsten Structuren vor dem Erweichen und Zerfallen schützen und sie auch auf die Dauer unverändert erhalten. Es soll also nach unserer heutigen Terminologie fixiren und conserviren. Es soll besonders zum dauernden Einschluss geeignet sein, da es von der allergrössten Wichtigkeit ist, dass die Forscher im Stande seien, ihre Präparate anderen zu zeigen[1].

Die Medien, welche allen diesen Forderungen genügen, sind das Glycerin oder der Syrup, d. h. die Lösung von Zucker in Wasser (3 Pfund auf 1 Pint oder etwas mehr als 1/2 Liter Wasser). Beale bediente sich aber doch beinahe nur des Glycerins. Nun wissen wir, dass das Glycerin zwar ein ausgezeichnetes Einschlussmedium des durch andere Agentien fixirten und noch anderswie vorbereiteten Gewebes ist, aber selbst keine fixirenden Eigenschaften besitzt. Aber es lag eben im Geiste der Zeit, alle diese Eigenschaften im Einschlussmedium selbst zu suchen. Gerade weil das Glycerin keine fixirenden Eigenschaften, vom Wasserentziehen abgesehen, besitzt, ist es dazu geeignet, als Vehiculum für jene Reagentien zu dienen, deren Einwirkungen man untersuchen will, obwohl auch die letzteren stark durch die Anwesenheit des Glycerins modificirt werden[1]. So kam es, dass beim Beale'schen Verfahren die Fixirung, so wie sie eben war, einerseits von der Injectionsmasse, mit welcher Beale die Gefässe füllte, andrerseits von der Tinctionsflüssigkeit, in welcher das Object lag, bewerkstelligt wurde. In beiden befanden sich nämlich Ingredienzien, welche, bei saurer Reaction der Flüssigkeit, eine langsame Coagulirung des Eiweisses herbeiführen mussten, was Glycerin allein nicht thut. So waren die wichtigsten Veränderungen bei den Objecten Beale's, weil unbeabsichtigt, auch uncontrollirbar, und eine grössere Schwäche kann eine Methode nach unseren heutigen Begriffen in der Mikrotechnik gar nicht haben.

Ferner ging Beale von der auch heute gültigen Voraussetzung aus, dass die feinen Structuren nur dann gut erhalten werden, wenn das

---

1) „That observers should be able to exhibit their preparations to others", Beale [1], p. 293.

2) Auf diese Thatsache wurde ich zuerst durch Versuche, welche im physiologisch-chemischen Laboratorium der hiesigen Universität unter Leitung meines lieben Freundes, Prof. Dr. Udránszky, von Herrn Privatdocenten Dr. Franz Koch ausgeführt wurden und z. Th. noch im Gange sind, aufmerksam gemacht.

Object von dem zu diesem Zwecke dienenden Medium schon sehr bald nach dem Tode des Thieres vollkommen durchdrungen wird, also wenn alle Theile des Gewebes sehr rasch mit dem Medium in Berührung kommen können. Deshalb ist es nöthig, entweder sehr dünne Stückchen des Objectes einzulegen oder die Gefässe des nicht zerstückelt eingelegten Thieres mit der Flüssigkeit zu injiciren.

Es ist nun ein weiterer Punkt der Beale'schen Forderungen, dass man die Gefässe von den anderen Bestandtheilen des Gewebes positiv unterscheiden könne; deshalb muss der zu injicirenden Conservirungsflüssigkeit eine farbige Substanz beigemengt werden, welche in den Gefässen verbleiben soll. Als solche Substanz benützte Beale das in der Injectionsflüssigkeit äusserst fein suspendirte Berlinerblau, mit Zusatz von etwa 7 % Alkohol und etwas Salzsäure[1].

Andrerseits ist es aber eine noch wichtigere Forderung, dass man die Materie, „in welcher active Veränderungen vor sich gehen", von der Materie, „welche in einem passiven Zustande" ist, unterscheiden könne. Dazu ist das beste Mittel die Tinction mit Carmin. Deshalb soll die Flüssigkeit, in welche das bereits injicirte Thier einzulegen ist, eine mit Glycerin gemachte Carminlösung sein. Diese Beale'sche Carminlösung enthält aber ausser etwa 2 g starker Ammoniaklösung mehr als 15 g Alkohol auf etwa 140 g Flüssigkeit, und sie soll noch mit Alkohol verdünnt werden[1]. Nach der späteren Vorschrift, welche eine Verbesserung des ursprünglichen Verfahrens sein soll, befände sich in der Carminlösung an 30 % Alkohol (d. h. die von Beale angegebenen Gewichte auf Gramme überrechnet und die Zahlen etwas runder gemacht: 1 g Carmin, 2 g „strong liquor ammoniae", 62 g Price's Glycerin, 23 g Alkohol von nicht erwähntem Grade)[1]; und diese Lösung soll vor dem Berlinerblau injicirt werden: also eine Alkoholmenge, welche etwa dem Drittelalkohol Ranvier's entspricht, das Eiweiss ziemlich rasch coagulirt und von Ranvier auch als eines der besten Fixirungsmittel empfohlen wird (Ranvier [2b] p. 118).

Allerdings ist hier die coagulirende Wirkung des in der Tinctionsflüssigkeit enthaltenen Alkohols durch den grossen Glyceringehalt derselben momentan aufgehoben[2], so lange die durch das Ammoniak bewirkte alkalische Reaction dauert, oder wenigstens keine Säuerung ein-

---

1) Die Angaben über die genauere Zusammensetzung dieser Injectionsmasse befinden sich bei Beale [1] auf Seite 296, über die erste Carminlösung auf Seite 109, dass sie mit Alkohol verdünnt werden soll auf Seite 295, über die zweite Carminlösung auf Seite 304.

2) Cfr. die Anmerkung zur vorigen Seite.

getreten ist. Um so grösser muss jedoch die auslaugende, extrahirende Wirkung des combinirten Glycerins und Alkohols sein. Aber nach dem Carmin injicirte Beale nicht nur die saure Berlinerblaumixtur, sondern legte das Object nach der Tinction auch in ein mit Essigsäure ziemlich stark angesäuertes Glycerin, wo sich die Coagulirung des Eiweisses vollzog, welche früher, so lange das Glycerin alkalisch oder neutral war, nicht eintreten konnte, oder erst nach längerem Stehen eingetreten wäre (s. über die coagulirende Wirkung des Alkohols bei Anwesenheit von Glycerin im V. Abschn.). Das Eiweiss der Gewebe musste, wenn in ihnen auch nur 10 % Alkohol enthalten war, bei dem Zusatz von Essigsäure durch das angesäuerte Glycerin sofort coaguliren.

So weit ist also das Beale'sche Verfahren eine sehr unvollkommene, weil sehr langsame und hinausgeschobene Alkoholfixirung, mit gleichzeitigem Maceriren und vorhergehendem Extrahiren von manchen Substanzen aus dem Gewebe, welche in dieser Weise für die Untersuchung verloren gehen. Aber auch das weitere Verfahren war derart, dass ein wichtiger Theil der Gewebe für die Untersuchung immer verloren gehen musste. Diese Manipulationen, äusserst bezeichnend für die sechziger Jahre und die ganze ältere Mikrotechnik, waren die folgenden.

Gegen die, wie es scheint, von mancher Seite gemachten Einwände, dass das Glycerin die Gewebsbestandtheile zum Schrumpfen bringe, vertheidigte Beale sein Verfahren lediglich mit zwei Behauptungen. Die Gewebe besitzen nach ihm „eine bedeutende elastische Eigenschaft und, obwohl sie, in ein Medium von bedeutender Dicke eingetaucht, schrumpfen, bekommen sie ihr ursprüngliches Volum wieder zurück, wenn sie darin eine Zeit lang belassen werden“ (Beale [**1**] p. 293)[1]. Zweitens sei übrigens bei seinem Verfahren die

---

[1]) „Tissues possess a considerable elastic property. and although they shrink when immersed in a medium of considerable density, they gradually regain their original volume if left in it for some time. In practice, the specimen is first immersed in weak glycerine or syrup, and the density of the fluid is gradually increased.“ Eine ähnliche Selbstberuhigung wie beim Trocknen der Gewebe an der Luft. Hier glaubte man auch, dass die Gewebselemente, sobald ihr Wassergehalt wieder ersetzt wird, auch ihre natürliche Beschaffenheit und Dimensionen wieder erlangen. Vom concentrirten Glycerin wissen wir aber jetzt, dass darin die infolge von Wasserentziehung zuerst stark schrumpfenden Gewebe, wenn überhaupt, nicht infolge ihrer eigenen Elasticität, sondern durch die macerirende, auflockernde Wirkung des Glycerins ihr früheres Volum zurückerlangen. Auch hat das Glycerin eine fortgesetzte auslaugende Wirkung auf die Gewebe, indem es das coagulirte Eiweiss zwar sehr langsam, aber deutlich nachweisbar wieder löst (cfr. den XIV. Abschn.).

Bedingung, die Concentration der Flüssigkeit sehr allmählich bis zur grösst möglichen zu steigern, auch wirklich erfüllt. In der That enthielten aber die ersten Flüssigkeiten, mit welchen die frischen Gewebe in Berührung kamen, in der Tinctionsflüssigkeit nach der zweiten Vorschrift etwa 2 Theile stärksten Glycerins auf einen Theil Alkohol, und in der Injectionsmixtur ebensoviel Glycerin auf einen Theil Wasser: also Concentrationsgrade, welche die feinerrn Structuren schon stark alteriren mussten.

Nachdem nun das Object einige Zeit lang, bis mehrere Tage, in dem mit Essigsäure versetzten stärksten Glycerin gelegen hatte, wird ein kleines Stückchen abgekniffen, z. B. mit einer feinen Scheere, auf den Objectträger gebracht und hier mit Nadel, Scheere und Messer bei schwacher Vergrösserung weiter zergliedert. Einzelne ausgewählte Stückchen verbleiben noch einige Stunden im stärksten Glycerin. Von hier kommen sie wieder auf den Objectträger und werden zuerst mit einem dickeren Deckgläschen provisorisch bedeckt. Der Objectträger kann über einer Lampe mässig erwärmt werden und das Deckgläschen wird durch leichtes Tupfen mit einer Nadelspitze auf das Object aufgedrückt. Die körnige Substanz (granular matter), welche nun das mikroskopische Bild möglicherweise verdunkelt, wird in der Weise entfernt, dass das Deckgläschen bei abermaligem Erwärmen des Objectträgers über das Object, welches dabei seine Lage nicht verändern soll, hinweggeschoben, und nun durch Abspülen mit angesäuertem Glycerin Alles, was sich durch den Strom des Glycerins auf dem erwärmten und geneigten Objectträger mitnehmen lässt, fortgeschwemmt wird.

Jetzt legt Beale das Deckgläschen wieder auf und übt durch dasselbe allmählich einen grösseren Druck auf das Object aus. Sieht das Bild noch nicht recht klar aus, so wiederholt er die obige Procedur, Ausschwemmen und Anpressen, eventuell von Tag zu Tag noch mehrere Male, bis das Bild durch keine Körnchen mehr getrübt und die erhaltene Schicht genug dünn ist. Dann ersetzt er das dickere, provisorische Deckgläschen durch das dünnste, welches zu haben ist, und das Präparat ist nach beliebigem Umrahmen mit einer Kittmasse zur Untersuchung mit den stärksten Vergrösserungen geeignet.

Das ist im Wesentlichen das Verfahren Beale's, auf welches er bei der Erforschung der schwierigsten histologischen Feinheiten das grösste Gewicht legte und welches damals in weiten Kreisen als das Nonplusultra der Mikrotechnik galt. Er hielt es für allerlei Lebewesen in der gleichen Weise geeignet; er hat dieselben Manipulationen auch an Schnitten des Centralnervensystems der Wirbelthiere mit Erfolg vor-

genommen[1]. Doch ist hier nicht der Ort, um sie kritisch zu erörtern; trotz ihrer Mängel und Irrthümer hat die Mikrotechnik BEALE's nicht wenig dazu beigetragen, die wissenschaftliche Welt von der fundamentalen Wichtigkeit der Proceduren, welche der mikroskopischen Untersuchung vorangehen müssen, zu überzeugen[2]. Mit dieser harmonirte die andere Ueberzeugung von BEALE leider nicht gut, dass sein Verfahren eine Universalmethode sei, welche bei allen Thieren und allen Geweben gleich gute Resultate gebe.

Andrerseits ist bei der damaligen Beschaffenheit der Linsen und der Beleuchtungsapparate, besonders aber bei der geringen Differenzirung der feineren Structurelemente, welche er erreichen konnte, auch die Ueberzeugung BEALE's vollkommen illusorisch gewesen, dass er durch die Steigerung der Vergrösserungen über eine gewisse Grenze auch mehr zu sehen im Stande wäre. Die 3000fachen und noch stärkeren Vergrösserungen, welche er benutzte, konnten die histologische Erkenntniss bei ihm gar nicht mehr fördern. Jene Grenze, über welche die Vergrösserung damals nutzlos gesteigert wurde, entsprach unseren heutigen mittleren Vergrösserungen, etwa einer 400-500fachen, so dass die andere Partei der Forscher der sechziger Jahre, welche behauptete, bei einer stärkeren als 200-300maligen Vergrösserung nicht mehr, sogar nur unbequemer

---

1) Ein ähnliches mit Ausklopfen (Auspinseln) und Ausschwemmen des Gewebes verbundenes Macerationsverfahren kann in der That Präparate liefern, welche die feinsten Verästelungen der Nerven viel leichter, als die tadellosesten modernen Schnittreihen verfolgen lassen.

2) Auf Seite 290 sagt BEALE [1]: „It has long been my opinion that real advance in our knowledge of minute structure depends mainly upon improvements in the methods of demonstration. Experiment has proved that the arrangement of the elements of the tissues of man and the higher animals in recent state is not to be made out by examination in water, serum, vitreous humour, and other solutions usually employed for this purpose etc." In schroffem Gegensatz hierzu stehen folgende Worte von LA VALETTE ST. GEORGE aus dem Jahre 1866: „Als Untersuchungsflüssigkeit" — für Eier von Säugethieren und Arthropoden — „wurde Jodserum benutzt, welches ein für viele Dinge so brauchbares Medium abgiebt, dass es auf dem Tische keines Mikroskopikers fehlen sollte. Wo es immer angeht, möchte es nützlicher sein, Zellen und was aus ihnen hervorgeht, frisch zu untersuchen, als deren wenn auch noch" so „schön einbalsamirte, jedoch häufig sehr veränderte Leichen. Für diesen Zweck ist dem nach M. SCHULTZE's Vorschrift durch geringen Zusatz von Jod leicht zu conservirenden Amnioswasser gewiss die erste Stelle einzuräumen." (v. LA VALETTE ST. GEORGE [1] p. 57.) Noch absprechendere Urtheile über die sich allmählich entwickelnde Mikrotechnik finden wir in den anatomischen Lehrbüchern von HYRTL,

sehen zu können, beinahe noch mehr Recht hatte, als die Vertheidiger der stärksten Linsen.

Aus der Kategorie der schwerflüssigen Einschlussmedien (viscid media BEALE's gegenüber den leichtflüssigen, „limpid media), der dritten Classe, welche in der zweiten Periode in die Wissenschaft eingeführt wurden, müssen wir noch die Lösungen von Gummi arabicum und von Gelatine nebst deren Combinationen mit den bereits erwähnten, Glycerin und Syrup, anführen. Besonders die Combination von Glycerin mit Gelatine und die des ersteren mit Gummi arabicum standen in grosser Ehre.

Der Gelatine begegnen wir zu diesem Zwecke zuerst in den Recepten von DEANE. Das erste, aus welchem Jahre, konnte ich nicht ermitteln, combinirte Gelatine mit Honig, mit Zusatz von etwas Alkohol und Kreosot; das zweite Gelatine mit Glycerin und Wasser und lieferte so den Glycerinleim, den Glycerine Jelly der Engländer, welcher besonders von Diesen noch heute viel benutzt wird.

Das conservirende Princip ist natürlich auch im Glycerinleim nur das Glycerin. Die Gelatine hat neben dem Glycerin nur insofern Bedeutung, als sie die Flüssigkeit zu einer bei gewöhnlicher Temperatur erstarrenden Masse macht, welche dem Präparat mehr Schutz gewährt, als das flüssig bleibende Glycerin, welches, damit sich das Deckgläschen nicht verschiebe und auch kein Staub eindringe, stets eine besondere Umrahmung erfordert.

Dieselbe Bedeutung, aber in noch höherem Grade, so dass das Medium wie Canadabalsam benutzt werden kann, hat in der FARRANTS'-schen Lösung neben dem Glycerin das Gummi arabicum. Die Combination von Glycerin mit Gummi arabicum hat FARRANTS[1] 1858 in die Wissenschaft eingeführt; später kam zu diesem Gemisch noch eine concentrirte Lösung von arseniger Säure in Wasser hinzu. In dieser Form ist die FARRANTS'sche Lösung, besonders bei den Engländern und für Zwecke der Studirenden im histologischen Practicum, bis auf heute in Gebrauch geblieben.

Was nun endlich die vierte Classe der Einschlussmedien,

---

[1]) Die meisten Autoren schreiben den Namen dieses Forschers falsch FARRANT anstatt FARRANTS (R. J.). BEALE [1] p. 58 schreibt ihn richtig. Auch erwähnt er als Bestandtheil der FARRANTS'schen Flüssigkeit die arsenige Säure noch nicht. Auch HARTING und FREY schreiben ihn richtig, der letztere erwähnt die FARRANTS'sche Lösung immer als arsenige Säure enthaltend. Dagegen schreibt LEE ([1] p. 233 und [3] p. 241) stets FARRANT, ebenso FOL [2] p. 138 u. A. m.

wohin wir die Balsame, Firnisse oder Harze etc. reihen, betrifft, so sind diese die einzigen, welche vom Anfang an ihrer eigentlichen Bestimmung gemäss nur als Einschlussmedien benutzt wurden, da ja ihre Natur, namentlich, dass sie sich mit Wasser nicht mischen, eine andere Verwendung von ihnen gar nicht erlaubte. Aber gerade diese Nothwendigkeit, die Präparate vorher zu entwässern, stand, wie bereits erwähnt, lange Zeit ihrer allgemeinen Verwendung im Wege.

Wenn ich mich nicht irre, so war J. Lockhart Clarke 1851 (Beale [1] p. 145) der erste, welcher eine Methode zum Vorbereiten des Präparates für Balsameinschluss ohne vorheriges Trocknen an der Luft ausfindig machte[1]. Er vertrieb nämlich den Weingeist aus seinen Schnitten des Centralnervensystems von Wirbelthieren durch Einlegen derselben in Terpentinöl, woraus die Schnitte direct in Balsam gelegt werden konnten. Anfangs war auch dieses Verfahren ziemlich unvollkommen, denn das Entwässern in Alkohol erreichte nicht den gehörigen Grad, um das Schrumpfen der Schnitte in Terpentinöl, so weit es möglich ist, zu vermeiden. Clarke berichtet nämlich, dass das Terpentinöl den Alkohol in Form von opaken Kügelchen vertreibe: ein Zeichen des ungenügenden Entwässerns.

Auch war es lange Zeit, bis zur Einführung des Nelkenöls durch Rindfleisch [1] (1865), ein allgemeiner Brauch, die Schnitte erstens sehr lange in Alkohol zu lassen, etwa 24 Stunden oder länger, und sie zweitens vor dem Einlegen in Terpentin so lange an die Luft zu legen, bis sie beinahe trocken geworden waren. Wie gross dabei die Wahrscheinlichkeit gewesen ist, die mannigfachsten Verzerrungen durch Schrumpfung hervorzurufen, kann sich Jedermann denken[2].

Immerhin bedeutet Clarke's Methode einen Fortschritt in der Mikrotechnik, welcher der Einführung des Glycerins mindestens gleichbedeutend ist, denn durch sie tritt das so wichtige Moment der Anwendung von Vormedien beim Einschluss und bei der Einbettung zuerst in die Reihe der mikroskopischen Proceduren ein. Ein gewisser weiterer Fortschritt in der Anwendung des Canadabalsams ist die Ein-

---

[1]) Wenigstens spricht z. B. auch Rindfleisch [1] (p. 138) 1865 vom vorherigen Durchtränken der Schnitte mit Terpentinöl behufs Balsameinschlüsse, als von der „bekannten Clarke'schen Präparationsmethode". Desgleichen Beale [1] (p. 144 u. f.) und Stieda [1] (p. 430). Die Arbeiten von Clarke [2a] und [2b], die ich kenne und in denen die Terpentinmethode genau mitgetheilt wird, sind aus dem Jahre 1857 resp. 1858.

[2]) Cfr. Rindfleisch [1] p. 138 u. f. — Frey lässt sogar 1886 (8. Aufl. des „Mikroskop" p. 147) noch die Schnitte in der bereits von Rindfleisch 1865 mit Recht getadelten Weise behandeln; s. oben p. 12.

führung des Chloroforms (SHEARMAN RALPH 1857)[1] als Lösungsmittel desselben, da Chloroformbalsam angenehmer zu behandeln ist, rascher erhärtet und heikle Tinctionen viel weniger angreift als Terpentinölbalsam. Auch andere harzige Medien wurden bereits in den sechziger Jahren empfohlen, so Dammarharz, Copallack, Mastix, Colophonium (nach THIERSCH aus venetianischem Terpentin bereitet) und Sandarak. Die beiden letzteren lassen eine Vereinfachung des Verfahrens zu, da sie in Alcohol absolutus löslich sind und so ein anderes Vormedium überflüssig machen, d. h. direct nach Alcohol absolutus dem Präparate zugeführt werden. Eine grössere Beliebtheit hat nur das Dammarharz erworben, welches lange Zeit, sogar bis heute, mit dem Canadabalsam rivalisirte.

Die ersten Vormedien, welche für den Harzeinschluss anstatt des Terpentinöls empfohlen wurden, sind Mitte der sechziger Jahre das Nelkenöl (durch RINDFLEISCH [1] 1865) und das Kreosot (durch STIEDA[2] 1866, eigentlich zuerst bereits 1863 von KUTSCHIN empfohlen). Letzteres wurde deshalb vorgeschlagen, weil es kein so vollständiges Entwässern, wie Terpentinöl erfordere, ja sogar unentwässerte Schnitte, z. B. direct aus Chromsäure, aufzuhellen im Stande sei. Ersteres sei nicht nur deshalb, weil es rascher wirke, und auch weniger entwässerte Schnitte, von welchen der Alkohol nicht abgetrocknet werden muss, aufhelle (RINDFLEISCH [1] p. 138), dem Terpentinöl weitaus vorzuziehen, sondern (nach STRICKER [2] p. XXIII) „auch seines angenehmen Geruches wegen, ferner weil es nicht so leicht verflüchtigt und endlich, weil auch die Consistenz der Präparate eine für die Schnittführung günstigere wird“.

RINDFLEISCH hat aber in seinem Nelkenöl, und STIEDA noch mehr im Kreosot, der Mikrotechnik ein Danaidengeschenk gemacht, insofern als diese Vormedien auch in die Paraffineinbettungsmethode anstatt Terpentinöl eingeführt wurden. Man glaubte nämlich — Manche glauben es sogar noch heute — dass das Nelkenöl oder das Kreosot, welche dem Terpentinöl als Vormedien vor dem Einschluss in Balsam vorzuziehen sind, auch zum Vorbetten bei dem Einschmelzen in Paraffin

[1]) Schlecht unterrichtet, wie so oft, sagt DIPPEL, dass FREY zum ersten Mal Chloroform zur Lösung von Balsam vorgeschlagen habe. ([2] p. 502 und [1] Theil I p. 1005).

[2]) STIEDA [1] hat 1866 bereits eine ganze Reihe ätherischer Oele auf ihre „aufhellenden Eigenschaften“ untersucht und theilte sie in zwei Gruppen, je nachdem sie, wie Terpentinöl, ein stärkeres Entwässern erfordern, oder aber, wie Kreosot und Nelkenöl, auch weniger vollkommen entwässerte Schnitte gut „aufhellen“.

oder dergleichen besser als Terpentinöl seien. In der That sind sie aber nicht nur nicht besser, sondern zum Durchtränken vor dem Wachs oder Paraffin überhaupt nicht geeignet, da sie Paraffin nur in einem im Vergleich mit dem Terpentinöl verschwindend kleinem Grade oder, wie Kreosot, überhaupt nicht lösen. So haben Nelkenöl und Kreosot der Vervollkommnung der Paraffineinbettung eine Zeit lang entschieden im Wege gestanden.

§ 9.

Härtung, Macerirung und Einbettung.

Die Einbettung führt uns zu den Manipulationen, welche in der zweiten Periode der Mikrotechnik dazu bestimmt waren, das Object zum Zerlegen geeigneter zu machen, entweder durch Steigern seiner Consistenz überhaupt (zum Schneiden), oder durch Vermindern der Consistenz gewisser Bestandtheile gegenüber der von anderen, welche resistenter werden sollten (zur Isolirung der Elemente). Erstere sind die Proceduren des Härtens, letztere die des Macerirens.

Das allgemeine Verfahren des Härtens ist in der ersten Periode das Trocknen des Objectes gewesen. Die zweite Periode beginnt gleich mit der Einführung eines Mittels, dessen Anwendung geeignet war, das Trocknen auch in dieser Beziehung mehr, als es der früher schon hierfür angewandte Alkohol thun konnte, in den Hintergrund der Mikrotechnik zu schieben.

Ich meine die von Hannover [2] im Jahre 1840 eingeführte Chromsäure, auf welche er durch Professor Jacobson (Kopenhagen) aufmerksam gemacht wurde. Er hatte mehrere Mittel zum Conserviren und Härten der Retina und des Nervensystems, unter anderen Kreosot und Kali carbonicum, versucht, aber ohne Erfolg; endlich fand er in der Chromsäure die Flüssigkeit, „in welcher nicht allein die äussere Form und die innere Structur derselben“ (Netzhaut und Nervensystem) „vollkommen erhalten wird, sondern diese auch in dem Grade erhärten, dass man die feinsten Schnitte machen kann, ohne dass die Elemente in Unordnung gerathen. Selbst die verschiedenen Farbennüancen z. B. des Gehirns und Rückenmarks, zeigen sich noch nach Monate langer Aufbewahrung, ja die gelbliche Färbung ist sogar zum Vortheil bei durchsichtigen und sehr zarten Gegenständen“. (Hannover [2] p. 547-548.) Hannover empfahl Chromsäure für allerhand Gewebe und machte auch auf ihre macerirende Wirkung „Sonderung der Theile“ besonders bei Muskelfasern aufmerksam. Er nahm 1 Th. Säure auf 16-20 Th.

Wasser, benutzte aber auch stärkere und schwächere Lösungen. Letztere zog er vor, da die äusseren Schichten des Objectes in starker Chromsäure zu rasch erhärten und dadurch impermeabel werden, so dass das Innere des Objectes verdirbt. Dies erfolgt auch dann, wenn die Stücke, z. B. des Gehirns oder Rückenmarks, zu dick sind etc. Hannover theilte bereits alle Gesichtspunkte mit, welche in der Benutzung der Chromsäure bis auf heute maassgebend geblieben sind. Der einzige wichtigere Fortschritt in der Anwendung der Chromsäure ohne andere Zuthaten ist die Einführung sehr dünner Lösungen (bis zu $^1/_{50}$ %) als Macerationsmittel (besonders für Retina) durch M. Schultze [5] 1856.

Zu den Lösungen der Chromsäure gesellten sich in den fünfziger Jahren die vom Kali bichromicum und später das von H. Müller zuerst empfohlene Gemisch von Kali bichromicum und Natron (Kali) sulfuricum ebenfalls in wässriger Lösung. Diese Mittel wurden in gleicher Weise gebraucht, nur galt das Kali bichromicum als ein viel langsamer wirkendes Reagens als Chromsäure. Auf die fundamentale Verschiedenheit der Fixirung der Zellstructuren durch die beiden Mittel ist man erst in neuester Zeit aufmerksam geworden. Ihr Gebrauch wurde so allgemein, dass man die vierziger und fünfziger Jahre in Betreff der Härtung und der mit dieser hier unumgänglich verbundenen Fixirung als die Herrschaft der Chromsäure und ihrer Salze bezeichnen kann. Selbst Forscher, welche anfangs, wie Clarke 1851, bereits mit Alkoholhärtung sehr schöne Resultate erzielt hatten, gingen, Clarke 1858, zur Chromsäurehärtung über.

Dennoch hat aber auch das Trocknen lange Zeit noch seine Anhänger behalten, und zwar sowohl das einfache Trocknen als auch das Trocknen nach einer gewissen Vorbehandlung: z. B. Räuchern, („Selchen“ bei Stricker [2] p. XXII) Kochen in Essig etc. Harting [**1**] bezeichnet das Trocknen noch 1866 als das in den meisten Fällen vortheilhafteste Mittel, um den Objecten die nothwendige Schnittfähigkeit zu verleihen (II. Bd. p. 82). Beale sagt in der 4. Auflage des „How to Work etc.“ von 1868 noch u. A. Folgendes: „Das sehr zarte nervöse Gewebe der Retina kann in sehr dünne Schnitte geschnitten werden durch Trocknen des Auges, nachdem es aufgeschnitten und auf einer Platte flach festgesteckt wurde“ (p. 82)[1].

Mitte der sechziger Jahre ist auch der Chromsäure und der

[1]) „The very delicate nervous tissue of the retina may be cut into very thin sections by drying the eye after it has been cut open, and pinned out flat on a board“.

MÜLLER'schen Flüssigkeit ein mächtiger Rival entstanden, und zwar im Osmiumtetraoxyd ($O_3 O_4$, damals, und sogar heute noch meist Ueberosmiumsäure, schlechthin auch Osmiumsäure genannt, s. im Abschn. V), welches zuerst 1864 von M. SCHULTZE empfohlen wurde. Zu allererst erkannte SCHULTZE ([1] und [4]) das Osmiumtetraoxyd als ein Tinctions-, resp. Imprägnirungsmittel zum Auffälligmachen solcher Gewebsbestandtheile, welche leicht oxydirbare Substanzen in grösserer Menge enthalten und daher besonders geeignet sind, durch Reduction das Metall des Osmiumtetraoxyds in feinster Vertheilung an sich zu binden. Bald darauf hat er das Osmiumtetraoxyd auch, und zwar hauptsächlich, als ein hervorragendes Härtungsmittel und, bei gewisser Anwendung, Macerationsmittel bekannt gemacht (1865 SCHULTZE und RUDNEFF und 1866 M. SCHULTZE [3]), welches die feinsten Structurverhältnisse ausserordentlich gut zu erhalten im Stande ist.

Das Osmiumtetraoxyd war aber weit entfernt davon, so rasch, wie die Chromsäure ihren Eingang in die Laboratorien der Mikrographen zu finden. Die Herrschaft der letzteren war eben zu stark begründet und seit Decennien zu allgemein anerkannt, um so rasch erschüttert werden zu können, zumal da der Anwendung des Osmiumtetraoxyds seine Kostspieligkeit und andere Unannehmlichkeiten im Wege standen. BEALE äussert sich 1868 über die „Osmiumsäure", welche er blos als Färbungsmittel betrachtet, und deren fixirender und härtender Wirkung er gar keine Aufmerksamkeit schenkt, in der folgenden Weise, wobei er speciell an die SCHULTZE-RUDNEFF'schen Methoden anknüpft: „Ich habe dieses Verfahren auch versucht, habe aber damit nichts erreicht. Ich kann feinere Nerven mit anderen Methoden deutlich zeigen, welche ich weder mit Gold- noch mit Osmiumsäure-Lösungen demonstriren konnte" ([1] p. 113)[1]. STRICKER [2] erwähnt in der allgemeinen Methodik zu dem „Handbuch der Lehre von den Geweben" 1869 (das betreffende Heft des Buches ist nämlich schon in diesem Jahr erschienen) die „Ueberosmiumsäure" als Härtungsmittel gleich dem zuerst 1867 von FR. E. SCHULZE [1, 1a, 1b] empfohlenen Chlorpalladium nur ganz nebenbei mit diesen Worten: „In neuerer Zeit wird auch die Ueberosmiumsäure und Chlorpalladium in sehr verdünnten Lösungen

---

[1]) I have also tried this plan, but have gained nothing by its use. I can show finer nerves clearly by other methods, which I could not demonstrate either by gold or osmic acid solutions." Dasselbe sagt übrigens BEALE [2] sogar 1880, p. 131, blos mit etwas anderen Worten, da ja die Auflage eine „durchaus revidirte und vermehrte" ist.

($^1/_5$ - $^1/_{10}$ %) als Erhärtungsmittel angewendet" (p. XXII)[1]. Dagegen behandelt er die Chromsäure und die Müller'sche Flüssigkeit relativ sehr eingehend[2]. Und in der That giebt es aus den sechziger Jahren nur wenige wichtigere Arbeiten, abgesehen natürlich von den Schultze-schen, deren Autoren sich der Osmiumsäure bedient hätten, und thaten sie dies auch, so beklagten sie doch meist den unbefriedigenden Erfolg.

Eine um so grössere Beliebtheit gewann die Osmiumsäure bei den Forschern der siebziger Jahre, so dass man diese beinahe als die Herrschaft des Osmiumtetraoxyds bezeichnen könnte. Das Vertrauen in dem Osmiumtetraoxyd wurde so gross, dass gewisse Forscher mit Recht ihre Stimme dagegen erhoben, dass man im Osmiumtetraoxyd ein allheilbringendes Universalmittel suche. So trachteten sie an die Seite des Osmiumtetraoxyds noch andere neue Härtungsmittel hinzustellen. Das erste von diesen ist die Merkel'sche [**1**] Flüssigkeit (ein Gemisch von Chromsäure- und Platinchloridlösung) 1870, welche besonders deshalb von grosser Bedeutung ist, weil sie das Platinchlorid zuerst in die Wissenschaft einführte. Platinchlorid ist nämlich sowohl für sich allein, als auch als Bestandtheil gewisser Gemische ein beliebtes modernes Fixirungsmittel. — Auch wurde bereits Ende der sechziger Jahre, besonders von Ranvier [**1**], die wässrige Pikrinsäurelösung als Fixirungsmittel empfohlen, welche man schon früher als Färbungsmittel benutzt hatte (Roberts [**1**] 1863).

Aber viel wichtiger als die der Pikrinsäure, wurde für die Mikrotechnik die Einführung der starken, ja sogar concentrirten wässrigen Sublimatlösung durch Arnold Lang [**1**] 1878, welche er gleich vom Anfang an als Fixirungsmittel in den Vordergrund stellte. Damit ist das so lange missachtete Sublimat, welches übrigens schon früher Blanchard — und durch diesen wurde Lang auf das Mittel aufmerksam — zur Fixirung mariner Strudelwürmer empfahl, in der Mikrotechnik endlich zu Ehren gekommen. Ich betrachte das Sublimat in dieser Anwendung als die wichtigste Errungenschaft des Endes der zweiten

---

[1]) Uebrigens ist nach Stricker 1869 die schönste und schonendste Methode zum Erzielen einer guten Schnittfähigkeit das Gefrierenlassen des Objectes. Das Trocknen will er, besonders ohne Vorbehandlung, wie z. B. Kochen in Essig, Selchen etc., blos auf gewisse Objecte und für gewisse Zwecke beschränkt sehen (p. XXI-XXII).

[2]) Von der Chromsäure sagt Stricker, dass man mit ihr in Tagen erreicht, was bei der Müller'schen Flüssigkeit und dem Kali bichromicum Wochen erfordert. Einen anderen Unterschied in der Wirkung beider Mittel erwähnt er nicht.

Periode der Mikrotechnik. Auch beginnt so zu sagen mit der Mittheilung LANG's der grosse Einfluss, den die zoologische Station zu Neapel auf die Mikrotechnik ausgeübt hat, und welcher mit der Ausarbeitung der ersten modernen Einbettungs- und Schnittserienmethode die dritte und letzte Periode der Mikrotechnik inaugurirt. Zur LANG'schen Sublimatmethode gesellt sich 1879 noch die Fixirung durch Pikrinschwefelsäure, eine Flüssigkeit, welche, die KLEINENBERG'sche genannt (FOSTER, M. and BALFOUR, FR. 1874 [**1**] p. 246 und KLEINENBERG, N. 1878 [**1**] p. 5-6), mit den Sublimatlösungen lange Zeit, obwohl unwürdig, siegreich concurrirt hat.

In einer anderen Schule, welche zur Neapler in vieler Hinsicht in ziemlich schroffem Gegensatze stand, hat in den letzten Jahren der zweiten Periode wieder die Chromsäure die Oberherrschaft an sich gerissen, aber nicht mehr als einfaches Härtungsmittel, sondern, in Folge unserer vermehrten Kenntnisse der feineren Beschaffenheit der Zelle in erster Linie durch die Arbeiten FLEMMING's, als Fixirungsmittel. Auch wurde die Chromsäure bald mit anderen Fixirungsmitteln combinirt, namentlich mit Osmiumtetraoxyd (MAX FLESCH 1879 [**1**]), mit Essigsäure (FLEMMING) und gleichzeitig mit Osmiumtetraoxyd und Essigsäure (FLEMMING [**5**] 1882 p. 380-382). Letzteres Mittel, das berühmte FLEMMING'sche Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch, führt uns jedoch schon in die dritte Periode über, für welche es mit anderen Osmium-Essigsäuregemischen ganz bezeichnend ist.

Wir haben aber, bevor wir zur dritten Periode der Mikrotechnik übergehen, die zweite noch in einigen weiteren Hinsichten zu charakterisiren.

Eine andere Richtung des Vorbereitens der Objecte zum Zerlegen als die Härtung ist die Macerirung für die mechanische, nicht blos optische Isolirung der Elemente; und ein weiteres Verfahren in der Richtung des Härtens ist die Einbettung für das schonendere Schneiden.

Die ältesten, noch von der ersten Periode datirenden Macerationsmittel sind, ausser dem weniger benutzten Kochen, die (meist 10procentige) Kochsalzlösung, das Kalkwasser, die verdünnte (20-30procentige) Salpetersäure und die (meist etwa 30-40procentige) Kalilauge (oder Natronlauge, oder Lösungen von Ammoniak). Zu diesen gesellen sich, schon als Errungenschaften der zweiten Periode, die Chromsäure, welche, als Macerationsmittel bereits von HANNOVER erkannt, in starken, bis zu $^1/_{50}$procentigen Verdünnungen für zarte Gegenstände zuerst 1856 von M. SCHULTZE [**5**] empfohlen wurde, und das Kali bichromicum, be-

ziehungsweise die MÜLLER'sche Flüssigkeit, letztere nebst der verdünnten Salpetersäure noch heute eines unserer besten Macerationsmittel. Die Mitte der Periode gab uns noch, durch M. SCHULTZE [2] (p. 263) 1864, das Jodserum, welches auch als für indifferent geltendes Beobachtungsmedium sehr hoch geschätzt wurde[1]. Wenn wir noch den in den siebziger Jahren von RANVIER [2] zuerst empfohlenen Drittelalkohol und die verschiedenen Verdauungsflüssigkeiten[2] erwähnen, so haben wir die wichtigsten der in dieser Periode gebräuchlichen Macerationsmittel aufgezählt.

Was die Einbettung des Objectes betrifft, so war diese bis zum Ende der zweiten Periode eigentlich nichts weiter als ein Einschliessen in eine sich an die Oberfläche des Objectes fest anschmiegende erhärtende Masse nur zum festeren Halt beim Schneiden. Die moderne interstitielle (bei idealem Gelingen sogar intracelluläre) Einbettung behufs Sicherung des Zusammenhanges und der natürlichen Lage und Form der Structurelemente sogar beim dünnsten Schneiden ist schon eine Errungenschaft der dritten Periode. Bei keiner Einbettungsmethode der zweiten Periode konnte die Einbettungsmasse die Gewebe gleichmässig durchdringen: entweder war dazu die Masse selbst ungeeignet, weil sie aus einer durch organische Membranen nicht diffundirenden Substanz bestand, oder aber war die Vorbehandlung des Objectes, resp. das Verfahren beim Einbetten so, dass es der an sich zur Diffusion geneigten Einbettungsmasse das Eindringen unmöglich machte.

Das älteste, bereits aus den vierziger Jahren stammende Verfahren, welches als eine Art von Einbettung bezeichnet werden kann, finde ich schon in den ersten Auflagen der Botanik von SCHLEIDEN (z. B. in [2]) erwähnt. Es besteht darin, dass man kleine Objecte in Gummischleim (oder einem Gemisch von Gummischleim und Zuckerlösung) auf Glas aufklebt und so die Schnitte vertical auf die Glasfläche verfertigt.

Ein anderes Einbettungsverfahren soll zuerst der Botaniker FENZL in den fünfziger Jahren angewendet haben, und zwar eine Paraffinmethode[3]. Ungefähr in dieselbe Zeit gehört das Verfahren BÖTTCHER's

---

[1]) Ein Zeugniss davon sind die auf Seite 71 (zweite Anmerkung) citirten Worte von LA VALETTE St. GEORGE.

[2]) Die Verdauungsflüssigkeiten von BEALE [1] 1858, von BRÜCKE [5], von KÜHNE [1] 1877 etc.

[3]) Es ist eine Tradition unter den Botanikern, dass EDUARD FENZL der erste gewesen sei, welcher die Paraffin-, resp. Stearineinbettung in die Wissen-

[1] 1856, welcher zarte zu schneidende Objecte, um sie besser schonen zu können, mit concentrirtem Leim umgab. Ein ähnliches Verfahren und zwar von V. HENSEN [1] (p. 509) für die Gehörschnecke empfohlen, um aus dem CORTI'schen Organ in situ Durchschnitte machen zu können, datirt aus dem Jahre 1863. HENSEN injicirte durch einen „Einstich in das Tympanum secundarium ziemlich concentrirten Leim (Gelatine lainé!)“ in die Scala tympani „und zwar so lange, bis er aus dem Vestibulum wieder abfliesst“. Der Leim transsudirte, wenn die Schnecke nicht zu kalt war, „auch in den Canalis cochlearis“. Nach der Gerinnung löste HENSEN die äussere Wand der Schnecke ab, so dass der Leimguss frei lag, mit welchem der Canalis cochlearis herausgenommen werden konnte. Nun legte er den Guss auf eine Unterlage in einen weiteren Tropfen concentrirten Leims und liess das Ganze ein wenig austrocknen, worauf er die Querschnitte mit dem Rasirmesser aus freier Hand verfertigte.

Dieses primitive Einbettungsverfahren ist nicht schlechter als alle späteren der Periode; schonender ist es gewiss als manche anderen, namentlich wenn das Trocknen nicht über eine gewisse Grenze ging. Auch die mögliche Dünne der Schnitte entsprach den damaligen Anforderungen.

Bald kam die Methode HEIDENHAIN's [1], welcher ebenfalls in eine concentrirte Lösung von Gummi arabicum einbettete. Nach der Schilderung STRICKER's [2] (p. XXIV) zu urtheilen, ist diese viel weniger rationell als die HENSEN'sche Gelatinemethode, da das Object direct aus Alkohol in eine Papierdüte mit der Gummilösung gelegt und das Ganze in Alkohol gebracht wurde, wo die Masse die gehörige Schnittfähigkeit

---

schaft eingeführt habe. So sagt AUGUST KANITZ (EDUARD FENZL, Eine Lebensskizze: Botanische Zeitung 38. Jahrg., 1880, No. 1 p. 1-13, auf p. 12): „Ein kleines wissenschaftliches Verdienst F.'s hob HOFMEISTER vor Jahren mir gegenüber hervor, dass nämlich die Einbettung kleiner Pflanzentheile in Stearin, behufs Gewinnung feiner Schnitte von ihm herrührt“, etc.

In der dritten Auflage das „Mikroskops“ von SCHACHT (die ersten Auflagen konnte ich nicht einsehen) aus dem Jahre 1862 (das Vorwort ist 1861 geschrieben) steht auf p. 65-66: „Auch kann zur Herstellung der allerzartesten Durchschnitte weicher Hölzer etc. die Injection mit geschmolzenem Stearin empfohlen werden. So injicirte Hölzer gewähren Durchschnitte von einer Zartheit, die sonst nicht zu erreichen ist (das Stearin wird später durch Behandeln mit Aether oder Benzin entfernt)“. Auf p. 68-69 beschreibt SCHACHT sein Verfahren des Einbettens sehr kleiner Gegenstände in Gummischleim eingehend: Auftragen und Trocknenlassen von Gummischleimschichten auf Hollundermarkfläche, Einstreuen von Pollen, kleinen Samen und ähnlichen Gegenständen in die noch weiche Masse, Schneiden parallel mit der Gummischleimschichte. Im Wesentlichen dasselbe, wie das von RANVIER noch heute empfohlene Verfahren.

bekommen soll. Der Alkohol, mit welchem das Object durchtränkt ist, löst das Gummi arabicum nicht, im Gegentheil, er coagulirt es und lässt es in das Object nicht eindringen.

His [5] und Andere schlugen als Einbettungsmasse Paraffin vor, Stricker [2] (p. XXIII) empfahl eine Mischung von Wachs und Oel. Die Paraffin- und Wachsgemische sind zwar an und für sich schnittfähiger als Gelatine und Gummi, was nützt aber die grössere Schnittfähigkeit der Einbettungsmasse, wenn nicht auch das Object sie durch die Einbettung bekommt? Dann hängt ja die Dicke der Schnitte, welche aus dem Object zu bekommen sind, nur von dem Härtungsgrade, von der Schnittfähigkeit, welche es an und für sich besitzt, ab, und darum ist jede Einbettungsmasse, welche das Object festzuhalten im Stande ist, gleich gut, oder genau genommen um so besser, je weniger schädliche Nebenwirkungen bei ihrer Anwendung mitspielen.

Man legte das Object entweder direct aus dem kalten Alkohol in die geschmolzene Masse und liess diese sofort erstarren, oder aber man wendete zwar eine Art Vorbetten an, wählte jedoch zu diesem Zwecke unglücklicherweise eine Flüssigkeit, welche das Paraffin nicht viel besser, oder sogar noch weniger als Alkohol löst, erwärmte sie vorher auch nicht und liess die geschmolzene Einbettungsmasse ebenfalls sofort erstarren. Das Moment des „Aufhellens", was wir Vorbetten nennen, war also beim Einbetten ganz nutzlos oder nützte nur insofern, als es, wie z. B. das Durchtränken mit Nelkenöl, dem Object eine zum Schneiden geeignetere Consistenz verlieh. Die bis zu Ende der siebziger Jahre meist benützten Vormedien waren Nelkenöl und Kreosot. Ersteres löst kalt nur sehr wenig Paraffin, nicht viel mehr als Alcohol absolutus. Auf dem Schmelzpunkt des betreffenden Paraffins mischt es sich damit nicht einmal: die Paraffintröpfchen steigen nach dem Zusammenschütteln immer sofort in die Höhe, und die Flüssigkeit erscheint ganz trübe. Erst bei einer viel höheren Temperatur wird diese klar und mischt sich das Paraffin mit dem Nelkenöl; auf den Schmelzpunkt des Paraffins abgekühlt, scheidet es sich wieder aus. Kreosot (und zwar beide Sorten) ist noch viel weniger geeignet, da es sich bei keiner Temperatur mit Paraffin mischt, wenigstens bei keiner, welche ich im Reagensglas prüfen konnte.

Also ist die Einbettungsmethode, wo man das Object direct aus dem Alkohol mit der geschmolzenen Masse übergiesst, nicht schlechter, als wenn man vorher mit Kreosot durchtränkt, obwohl letzteres Verfahren noch Mitte der siebziger Jahre besonders als dann geeignet empfohlen wurde, wenn die Einbettungsmasse aus Paraffin bestand

(Foster und Balfour [2] p. 247). Beide Methoden sind jedoch irrationell; und doch ist die erstere auch heute noch keineswegs verlassen, vielmehr wird sie von Ranvier ([2b] 1889 p. 80) warm empfohlen.

Im Allgemeinen stand die Einbettungstechnik 1874 (nach Foster und Balfour [1]) noch dort, wo sie 1869 (nach Stricker [2] zu urtheilen) war[1]. Die von Klebs [1] 1869 gegen sie gemachten Vorwürfe (p. 165) hatten ihre Gültigkeit 1874, ja sogar 1879, wenn man die verbreitetsten Verfahren in Betracht zieht, noch nicht verloren. Klebs sagt, der Werth der drei damals gebrauchten Methoden, nämlich der Gummimethode Heidenhains, der Wachs- und Oel-Methode von Stricker und der Paraffinmethode von His, sei ein ziemlich beschränkter: „die erste bedingt Trocknung des imprägnirten Präparats, die beiden anderen lassen sich nur an in Spiritus gehärteten Präparaten mit Vortheil gebrauchen und selbst dann schmiegt sich die Masse nicht immer vollkommen der Oberfläche des Präparates an, es bleiben Lücken, welche bei dem Anfertigen von Schnitten störende Bewegungen des eingeschmolzenen Gegenstandes zulassen".

Diesem Uebelstande wollte Klebs dadurch abhelfen, dass er, anstatt Gummi, Wachs oder Paraffin, als Einbettungsmasse Glycerinleim vorschlug. Dieser ist, erstarrt und in Alkohol „oder Chromsäure", in welchen gerade das Präparat auch vorher gehärtet gewesen ist, nachgehärtet, durchsichtig, lässt eine genaue Orientirung über die Schnittrichtung zu und schmiegt sich an die Oberfläche des Objectes sehr genau an ohne es indessen durch Contractionen zu verzerren. Die Schnittfähigkeit der Masse scheint für Klebs hinreichend gewesen zu sein, da er das eingebettete Object aus freier Hand „mit dem Rasirmesser" oder mit „künstlichen Schneideapparaten in feine Schnitte" zerlegen konnte ([1] p. 165).

Wie man aus seiner Mittheilung ersieht, bezweckte Klebs eine interstitielle Einbettung gar nicht, und eine solche kann bei seinem Verfahren auch gar nicht erfolgen, da das Medium (Alkohol, Chromsäurelösung etc.), womit das Object vorher durchdrungen gewesen ist, und welche Klebs vorher nicht durch Wasser oder Glycerin ersetzt, die Einbettungsmasse nicht nur nicht löst, sondern sogar zu ihrer weiteren Härtung bestimmt ist. Dagegen ist die 1873 veröffentlichte Einbettungsmethode von Flemming [11] in Transparentseife im Princip ganz gut dazu geeignet, um eine interstitielle Einbettung zuzulassen,

[1]) Die ersten Hefte des Stricker'schen Handbuches, mit der allgemeinen Methodik von Stricker, welche den ersten Abschnitt bildet, waren in 1869 bereits erschienen.

das Object mit der Einbettungsmasse in der Weise durch und durch zu imprägniren, wie man es z. B. mit einem ätherischen Oele, etwa mit Nelkenöl, nach Alcohol absolutus kann. Die Transparentseife ist nämlich in der Wärme sehr gut in Weingeist löslich, woraus die Objecte in sie gebracht werden, und andererseits ist ihre warme alkoholische Lösung sehr gut diffundirbar, kann also in die Gewebe eindringen.

Ein grosser Nachtheil der Methode ist aber, dass man die Masse mit dem Object, wie Flemming angiebt, 1-2 Tage lang dem Trocknen an der Luft aussetzen musste. „Hierbei zieht sie sich und natürlich auch das Object mit entsprechend zusammen, oft bis auf mehr als die Hälfte ihres früheren Volums, doch dehnt sich der Schnitt“, welcher mit trockenem Messer gemacht wird, „nach dem Auswaschen wieder auf seinen früheren Umfang aus. Dies geschieht auch noch, nachdem man die Pasten wochenlang hat liegen lassen“ (p. 124). Dasselbe, dass nämlich die Gewebe in Wasser wieder ihre ursprüngliche Beschaffenheit erlangen, behaupteten jedoch auch jene älteren Forscher, welche das Object durch Trocknen an der Luft ohne Einbettung zum Schneiden geeignet zu machen suchten.

„Das Object“, sagt Flemming, „durchtränkt sich selbst mit der Seife, so lange dieselbe noch flüssig ist, und erlangt dadurch nachher eine Festigkeit und Schneidbarkeit, wie sie mir an entwässerten (Nelkenöl-, Terpentin-) Präparaten nur in Glücksfällen vorgekommen ist“. Deshalb erscheint es uns heute nicht recht praktisch, dass Flemming die Masse schon gleich nach dem Einlegen des Objectes erstarren liess, was in einer Viertelstunde erfolgte. Man muss allerdings bedenken, dass damals wohl in keinem Laboratorium Thermostaten zur Hand gewesen sind, um die Einbettungsmasse mit dem Object bei einer beliebigen constanten Temperatur verweilen lassen zu können. Unseren heutigen Begriffen von feinen Schnitten entsprechen jedoch die mit Transparentseife zu machenden in keinem Falle.

Dies gilt auch von der Eiweissemulsion Calberla's [1], obwohl sich diese, nach meiner Erfahrung wenigstens, doch etwas dünner als die trockene Seife schneiden lässt. Indessen bezeichnet die Methode Calberla's von 1876 (Einlegen in die Emulsion in einem Papierschächtelchen, Erstarrenlassen in Alkoholdämpfen bei erhöhter Temperatur und Nachhärten in Alkohol) keinen wirklichen Fortschritt in der Einbettungstechnik, und dazu ist sie noch verhältnissmässig sehr umständlich[1].

---

[1]) Dasselbe gilt von der Bunge-Rosenberg'schen Talg-Natronalbuminat-Masse, deren Darstellung von Bresgen [1] geschildert ist und welche auch von Calberla [1] erwähnt wird.

„Nach 5-20 Minuten (je nach der Dicke) ist das Object genügend mit der Eiweiss- oder Masselösung getränkt, und man kann es sofort auf einem Stück alter gehärteter Masse befestigen“ — sagt CALBERLA (p. 446). Davon, was wir heute eine genügende Durchtränkung des Objectes mit der Einbettungsmasse nennen, kann bei dieser Emulsion überhaupt keine Rede sein, geschweige denn in 5-20 Minuten.

So kommen wir in die zweite Hälfte der siebziger Jahre, sogar an das Ende der zweiten Periode, ohne die richtige Einbettungsmethode erreicht zu haben. PFITZNER [1] hat nicht einmal 1880 ganz Unrecht gehabt, als er bei seiner Untersuchung über die Epidermis der Amphibien sagte (p. 479): „Die Schnitte müssen nicht zu gross, recht dünn und gleichmässig sein. Hollundermark ziehe ich hierbei allen anderen Einbettungen vor.“ Einen gewissen Fortschritt sehen wir in den Paraffin-, Wachs- oder Wallrathmethoden indessen doch schon. Man hat sich nämlich allmählich an ein Vormedium gewöhnt, welches Paraffin etwas besser löst, und man ist zur Einsicht gekommen, dass es gelegentlich, namentlich wenn das Object Hohlräume besitzt, welche von der Einbettungsmasse auch gefüllt werden sollen, vortheilhaft ist, das Vormedium mit dem Object eine Zeit lang warm zu halten und auch die Einbettungsmasse nicht sofort um das Object herum erstarren zu lassen, sondern sie eine Zeit lang ebenfalls flüssig zu erhalten.

Ich glaube, KLEINENBERG hat an Stelle des wenig geeigneten Nelkenöls und des ganz zu verwerfenden Kreosots zuerst das Bergamottöl eingeführt, welches bedeutend mehr Paraffin als das Nelkenöl zu lösen im Stande ist, obwohl noch bei Weitem nicht genug[1]. Was die längere Durchtränkung des Objectes im flüssigen Paraffin oder Wallrath etc. betrifft, so lesen wir bei FOSTER und BALFOUR [2] (p. 248) Folgendes: „Es ist vortheilhaft, den Gegenstand vor der definitiven Einbettung schon von warmem Spermaceti durchdringen zu lassen, jedoch ist die Handhabung bei so jungen Embryonen schwierig“. Für solche Fälle, wo der einzubettende Gegenstand keine Hohlräume besitzt, in welche die Mischung eindringen soll, hielten sie es für genügend, das Object (Hühnchen) aus dem Alkohol, oder „vortheilhafter“, nachdem es von Nelkenöl (für Wachseinbettung), resp. Kreosot (für Paraffin!) durchdrungen ist, aus letzteren herauszunehmen, mit Fliesspapier abzutrocknen, in eine flache Grube im Block der Einbettungsmasse hineinzulegen und es vorsichtig mit etwas von der durch stärkeres Erwärmen flüssig ge-

---

[1]) In Betreff der Löslichkeit des Paraffins in den verschiedenen bis jetzt empfohlenen Vormedien siehe Abschn. IX.

machten Einbettungsmasse zu übergiessen. Offenbar war damals der allgemeinen Verbreitung der rationelleren Methode des Stehenlassens in der flüssigen Masse bei den meisten Forschern noch immer der Mangel eines Thermostates in Form eines handlichen Paraffinofens im Wege.

Bei der von Strasser [1] 1879 angegebenen und nachher von Vielen benützten Methode wird vom Bergamottöl und vom Stehenlassen in der flüssigen Einbettungsmasse schon Gebrauch gemacht, aber von beiden in einem ungenügenden Grade. Mit Bergamottöl wird „kurze Zeit“ durchtränkt, und kleinere Objecte werden aus der bei 45° C. flüssig erhaltenen Einbettungsmasse — Spermaceti 4, Ricinusöl 1 (nach Kleinenberg), Talg 3-4 Theile — schon nach 10-15 Mitnuten herausgenommen. Also hatte das Bergamottöl keine Zeit, den Alkohol, und die Einbettungsmasse keine Zeit, das Oel (und den im Object zurückgebliebenen Alkohol) zu verdrängen. Und hätte man das so eingebettete Object nicht mit einem mit Alkohol befeuchteten Messer geschnitten, sondern trocken, wie heute bei Paraffineinbettungen, so hätten die Schnitte infolge der Verdunstung des noch in den Geweben befindlichen Alkohols oder Oels ein ziemlich trauriges mikroskopisches Bild gegeben.

Als einem vorausgeworfenen Strahl einer besseren Zeit begegnen wir zu Ende der zweiten Periode, 1879, der ersten Mittheilung Duval's [**1** und **2**] über die Collodiumeinbettung, welche im Vereine mit Schiefferdecker's (und Merkel's) Celloidinmethode vom Anfang der dritten Periode (1882), dazu bestimmt war, die ersten Grundlagen zu der einen Hauptrichtung der modernen Einbettungstechnik zu liefern. In ihrer ursprünglichen Form gestattete die Collodiumeinbettung weder ein gehöriges Durchdringen der Gewebe mit der Einbettungsmasse, insofern die Gewebsbestandtheile für sie überhaupt permeabel sind, noch erhielt die Einbettungsmasse selbst die befriedigende Schnittfähigkeit. Ersteres, weil man die Durchtränkung gleich mit einer dicken Lösung anfing, welche nur dorthin vordringen konnte, wo die Masse am leichtesten hin kann, nämlich in Gewebsinterstitien, welche direct oder indirect nach aussen communiciren. (Durch bindegewebige Membranen, Basalmembranen von Epithelien und überhaupt durch eingedickte Intercellularsubstanzen, um von festeren Zellhäuten und den Membranen bläschenförmiger grösserer Kerne gar nicht zu sprechen, können dickere Collodium- oder Celloidinlösungen nicht hindurchfiltriren, wohl aber, mit gewissen Ausnahmen und unter Bedingungen, deren Erörterung in Abschnitt IX folgen wird, die allerdünnsten.) Die Einbettungsmasse selbst

konnte dagegen nicht die gehörige Schnittfähigkeit erlangen, weil die nothwendigen Finessen beim Erstarrenlassen derselben noch nicht bekannt waren.

Einen sehr grossen Vortheil hatte die Collodium- oder Celloidineinbettung vor den anderen damaligen Verfahren von Anfang an voraus, dass nämlich bei ihr das Medium (Alcohol absolutus und Aether), woraus das Object in die Einbettungsmasse kam, gleichzeitig das beste Lösungsmittel der letzteren ist.

Ich irre mich vielleicht nicht, wenn ich den hauptsächlichsten Grund davon, warum die Mikrotome bei den besten Forschern noch in den siebziger Jahren so wenig Anklang gefunden haben, darin erblicke, dass die Objecte in ungenügender Weise vorbereitet, besonders schlecht eingebettet in das Mikrotom kamen. Und aus einem schlecht eingebetteten Object konnten die verhältnissmässig schon ziemlich guten Mikrotome auch keine besseren Schnitte machen als die geübte freie Hand mit einem guten Rasirmesser. An den wenig befriedigenden Erfolgen des Mikrotomschneidens waren nicht mehr die Mikrotome schuld.

Stricker [2] hatte 1869 noch ziemlich recht, als er von den Mikrotomen behauptete, dass „diese Vorrichtungen noch nicht jenen Grad der Vollkommenheit erlangt“ haben, „um ihnen allgemeinen Eingang zu verschaffen. Es wird also bis jetzt immer noch aus freier Hand geschnitten“ etc. (p. XXII). Schon wenige Jahre später hatte diese Aussage ihre Gültigkeit verloren, besonders nachdem die Leyser'schen Schlittenmikrotome, nach dem Princip des hölzernen Rivet'schen Mikrotoms von 1871 auf Anregung von Brand (s. Grönland, Cornu et Rivet oder Weigert [5]) in Messing ausgeführt, bekannt geworden waren. Von diesen fehlten nur mehr wenig Schritte zu dem nach den Neapler Vorschlägen gemachten Jung'schen Mikrotom, und in der That functioniren die Rivet'schen Instrumente von Leyser oder Zeiss (besonders mit den Modificationen von Long — s. Waldeyer [2] — und Reichenbach [1]) ganz gut[1]. Dennoch wollte sich das Verhältniss, dass sich die „Mi-

[1]) Mit vollem Rechte sagt Weigert [5] in seinen jüngsten Auseinandersetzungen über die Geschichte der Mikrotome (1894), dass sämmtliche Schlittenmikrotome in erster Linie mit dem Namen Rivet's bezeichnet werden müssen. Er war es nämlich, der unter anderen originellen Erfindungen die Befestigung des Messers an einem Schlitten, welcher sich auf einer geradlinigen, horizontalen Bahn bewegt, eingeführt hat und so der erste gewesen ist, welcher nicht mehr die Unterfläche der Messerklinge selbst als Führungsfläche benutzte: ein Princip, welches bei sämmtlichen modernen Mikrotomen beibehalten wurde. Am richtigsten ist es, die verschiedenen Schlittenmikrotome in der Weise zu bezeichnen, dass man neben Rivet den, welcher die

krotome hauptsächlich in den Händen von Präparateuren und Dilettanten befanden, während die Mikroskopiker von Fach sie grösstentheils verschmähten“ (Schiefferdecker [3] p. 91) noch lange nicht wesentlich ändern. Bei Foster und Balfour lesen wir 1875 über die Schnittreihen durch das Hühnchen, wo also Mikrotome am meisten angezeigt wären: „Man kann Schneidemaschinen anwenden; wir selbst ziehen ein einfaches Rasirmesser mit festem Stiel (d. h. ohne Einschlag) bei Weitem vor“ (p. 248). Um nur noch einen Forscher, und zwar nicht von jenen, bei welchen es kein Interesse hat, wie sie ihre unbedeutenden Resultate erzielen, zu erwähnen, hat Hatschek[1] [1] seine berühmte Arbeit über die Entwickelung des Amphioxus hauptsächlich auf Grund von Querschnittreihen aus freier Hand geschrieben.

§ 10.

Differenzirung des mikroskopischen Bildes.

Es bleibt nur noch übrig kurz zu überblicken, welche Mittel die zweite Periode zur Erleichterung und Vertiefung der mikroskopischen Analyse des bereits der Untersuchung zugänglich gemachten Objectes hervorgebracht hat.

---

wichtigste Modification an dem Rivet'schen Original vorgeschlagen hat und den betreffenden Mechaniker, der das Instrument zuerst so ausführte, nennt. So können wir z. B. von einem Rivet-Brand'schen Mikrotom von Leyser, von einem Rivet-Weigert'schen von Schanze (s. Weigert [5] p. 11), von einem Rivet'schen Instrument von Jung nach den Neapler Vorschlägen etc. reden. Die Einführung der „fünf Punkte“ von Thoma [1] ist eine so unwesentliche und dabei für viele Fälle ganz unpraktische Modification, dass es ganz ungerecht ist, von einem Thoma'schen anstatt Rivet'schen Mikrotom zu reden.

1) Sein Verfahren beim Verfertigen der Schnittreihen schildert Hatschek auf p. 10-11 ganz eingehend. Es ist, was Fixiren, Färben, Härten, Einbetten, Schneiden und das Behandeln der Schnitte betrifft, eine ganz für die siebziger Jahre charakteristische Methodik (die Arbeit wurde 1879 ausgeführt). Auf p. 11 sagt er: „Die Schnittserien wurden ohne Mikrotom aus freier Hand angefertigt, was bei so kleinen Objecten bei einiger Uebung ganz leicht gelingt. Es wurde in Alkohol geschnitten“.

Warum Hatschek durch die Anwendung eines Mikrotomes, wäre es noch so gut gewesen, in der That auch nicht viel gewonnen hätte, erhellt aus der Art und Weise, wie er sein Object einbettete und die Schnitte behandelte. Der Embryo wurde aus absolutem Alkohol auf einen Objectträger gelegt und mit einem Tropfen Nelkenöl „aufgehellt“. Nach dem Wegfliessenlassen des Oels wurden, wenn der Embryo nur noch benetzt dalag, vorsichtig einige Tropfen nicht zu stark erwärmter Wachs-Oelmischung auf den Embryo geschüttet. Das Object wurde mit dem Wachsplättchen, in welchem es sich nun befand,

Das älteste, noch von der ersten Periode geerbte Mittel zu diesem Zwecke, welches darin besteht, dass man den verschiedenen Gewebsbestandtheilen eine verschiedene Durchsichtigkeit und Lichtbrechung verleiht, dominirt noch in den vierziger und fünfziger Jahren. Am wichtigsten ist noch immer die Zuthat von Essigsäure, um die Kerne auffälliger zu machen, und von Essigsäure, oder anderen verdünnten Säuren oder Alkalien, um undurchsichtige Gewebsschichten aufzuhellen. Auch letztere Procedur muss zu den Mitteln der Differenzirung gerechnet werden, denn ohne andere Beihülfe nützt das Aufhellen bei der Untersuchung nur dann, wenn nicht alles im gleichen Grade aufgehellt und durchsichtig wird; nur dann werden die auf Lichtbrechungsunterschieden beruhenden Contouren des mikroskopischen Bildes durch das Aufhellen nicht vollkommen „ausgelöscht".

Oft waren aber die Contouren zarter Structurelemente, untersuchte man sie auch in schwach brechenden Medien, so wenig auffallend gezeichnet, dass man bereits zu Ende der ersten Periode anfing ihnen künstlich eine Farbe zu verleihen, damit sie wenigstens von dem

---

von dem Objectträger abgeschoben, und auch seine andere, früher dem Glase zugekehrte Seite mit einem Tropfen wenig erwärmter Wachsmasse bedeckt. Damit die neuerdings aufgetragene Masse sich nicht ablöse, musste die ganze Masse in einiger Entfernung vom Embryo mit einer heissen Nadel mehrfach durchstochen werden. Da es in dieser Weise der Einbettungsmasse unmöglich war, das Object durchzudringen, so konnte es auch nach dem Einbetten keine bessere Schnittfähigkeit bekommen, als welche es durch das Fixiren, Härten, Entwässern und Vorbetten in Nelkenöl bereits erlangt hatte. (Fixirt hat Hatschek in der Weise, dass er in das Uhrschälchen voll Seewasser, in welchem sich die Amphioxusembryonen, bis mehrere Hunderte, befanden, etwa 10 Tropfen einer halbprocentigen Osmiumtetraoxydlösung zutröpfelte. Nach dem Abgiessen des osmiumhaltigen Seewassers setzte er direct Beale'sches Carmin oder Picrocarmin zu. Nach höchstens 5 Minuten wusch er mit Wasser aus und ersetzte dieses durch allmählich verstärkten bis absoluten Alkohol.)

Den Schnitt schob Hatschek vom Messer auf den Objectträger, behandelte ihn mit einem Tropfen Alcohol absolutus und dann mit einem Tropfen Nelkenöl. Das Wachs entfernte er dadurch, dass er den Objectträger über einer Weingeistlampe erwärmte. „Das erwärmte Nelkenöl", so beendet Hatschek die Schilderung seines Verfahrens, „löst das Wachs sehr rasch auf. Nach Entfernung des überflüssigen Nelkenöls (man kann den Schnitt leicht mittelst einer Nadel aus dem erwärmten Nelkenöltropfen herausführen) wird der Schnitt in Canadabalsam aufbewahrt".

Erst wenn wir solche Schilderungen der Methodik der besten Forscher von dem Ende der zweiten Periode mit der Mikrotechnik, welche wir heute für ähnliche Zwecke besitzen, vergleichen, wird uns der Fortschritt unserer Kunst in den letzten zwei Decennien, welche wir die dritte Periode nennen, in seiner wirklichen Grösse erscheinen!

Gesichtsfelde besser abstechen. Das älteste dieser färbenden Mittel ist, wie schon erwähnt, abgesehen von einigen anderen Versuchen, welche nicht eigentlich eine Tinction bezweckten[1], eine Lösung von Jod, welches bald nach seiner Entdeckung 1811 durch Courtois zu solchen Zwecken verwendet wurde. Ausser zum Nachweis des sich damit blau färbenden Amylums, war die Jodtinctur in den vierziger und fünfziger Jahren noch immer das allerwichtigste färbende Reagens zum Sichtbarmachen der verschiedensten Structuren, ohne besondere Differenzirung derselben unter einander, geblieben.

Ebenfalls aus der vorhergehenden Periode stammende Reagentien, welche Substanzen von einer gewissen grösseren chemischen Kategorie in gleicher Weise färben, waren die concentrirte Salzsäure, welche die „Proteïnverbindungen“ schwärzlich-violett färbt, und die viel wichtigere Salpetersäure, nach deren Zusatz Proteïnverbindungen in Folge der Entstehung von „Xanthoproteïnsäure“ in ihnen eine gelbe Färbung annehmen, welche durch Alkalien noch vertieft wird. Andere mehrere Reagentien aus den vierziger Jahren, so die rothe Millon'sche Quecksilber-Salpetersäure-Reaction, die dunkel-rothe Raspail-Schultze'sche Zucker-Schwefelsäure-Reaction des Eiweisses; die blaue Schulz'sche Chlorzink-Jodjodkali-Reaction der Cellulose, die Trommer'schen und Moore'schen Reactionen des Zuckers etc. spielten in der thierischen Mikrotechnik immer nur eine verhältnissmässig kleine Rolle.

Die wichtigste Errungenschaft des Anfanges der zweiten Periode (1840), die Einführung der Chromsäure (cfr. p. 75-76), hat auch die Färbetechnik mit einem Mittel bereichert, welches zum Auffälligmachen zarter Structuren bald siegreich mit der Jodtinctur concurrirte. Etwas später traten der Chromsäure ihre verschiedenen Salze auch in dieser Hinsicht zur Seite.

Weder die Chromsäure oder ihre Salze, noch die Salpetersäure und die Jodtinctur können die verschiedenen Gewebsbestandtheile von einander in der Farbe wesentlich differenziren, wenigstens innerhalb einer grösseren chemischen Kategorie nicht. Die Chromsäure verleiht zwar den verschiedenen Geweben verschiedene Farbentöne, diese Verschiedenheit ist aber mehr nur bei makroskopischer Betrachtung oder bei ganz schwachen Vergrösserungen zu verwerthen. Eine umso auffälligere Farbe konnte gewissen Elementen des mikroskopischen Bildes durch eines der ältesten mikrotechnischen Verfahren, nämlich durch Inji-

[1]) Siehe die Fütterungsversuche von Ehrenberg auf Seite 48 dieses Werkes und die Versuche Hedwig's, um das Saftsteigen in den Pflanzen zu demonstriren, ebendort in der 1. Anmerkung etc.

ciren von Farbstoffen in die Hohlräume des Objectes, verliehen werden. Allerdings handelt es bei sich Injectionen nicht um Färbungen der Gewebsbestandtheile selbst, sondern blos um einen indirecten Nachweis der Existenz, des Verlaufes, resp. Vertheilungen von röhrenförmigen Körpertheilen oder überhaupt von Hohlraumsystemen im Körper; aber die gefärbten Substanzen, welche injicirt werden, verbleiben im mikroskopischen Präparat und werden so zu präponderirenden Constituenten des mikroskopischen Bildes, welche sich von dem eigentlichen Gewebe scharf abheben. Da es nun von Alters her bekannt war, wie man die anatomisch verschiedenen Hohlraumsysteme, welche sich im Gewebe verflechten (Arterien, Venen, Lymphgefässe, Drüsengänge, Blut- und Gallencapillaren etc.), mit verschieden gefärbten Massen injiciren kann, so entschädigte seiner Zeit der Farbenreichthum der Injectionspräparate für die sonstige Oede des mikroskopischen Bildes, welches die Gewebe gewährten.

Gerade weil die Kunst der feinen Injectionen vielleicht der älteste Zweig der Mikrotechnik ist, hat sie auch bereits Mitte der zweiten Periode ihre grösste Blüthe erreicht. Von dieser Zeit an haben die neueren Untersuchungsmethoden, namentlich die Tinctionen mit Carmin und anderen Mitteln, die sogenannten Imprägnirungen mit Silber, Gold und Osmium, und die verbesserten Härtungen und Conservirungen (für uns Fixirungen), den Forschern so viele weit wichtigere Verhältnisse als der Verlauf der Gefässe in den Organismen enthüllt, dass das Interesse von den Injectionen immer mehr abgelenkt wurde und die Injectionstechnik kaum irgendwelche namhafte Förderungen zu verzeichnen hatte. Ich will jedoch auf die Ursachen, warum die schönen Tage der Injectionen entflohen sind, hier nicht näher eingehen; vorläufig will ich nur so viel constatiren, dass die unlängst (1892) verklungenen Jeremiaden Aimé Schneider's[1] [**1**] schon in der zweiten Hälfte der zweiten Periode eine ziemliche Berechtigung gehabt hätten, sogar für die Wirbelthiere. Wenn auch die Studenten in den Laboratorien sich noch lange Zeit eingehend mit der Injectionstechnik beschäftigen mussten, und man auch, ebenso wie heute, noch viele Injectionspräparate verfertigte, so ändert das an der Sache nichts,

[1]) Er sagt auf Seite 1 seiner geistreichen Arbeit Folgendes: „Les injections fines. La mode n'y est plus, c'est certain, c'est si vrai qu'il y a de vastes groupes zoologiques dont nulle canule n'a effleuré un seul membre depuis trente, quarante, cinquante ans“ etc. Auf die Vertheidigung der Injectionen durch Aimé Schneider werden wir in Abschnitt XI noch zurückkommen.

denn die Präparate dienten und dienen blos zur Demonstration bekannter Verhältnisse und nicht als Vorarbeiten von selbständigen, auf neue Thatsachen gerichteten Untersuchungen. Methoden, welche blos zum Erlernen und nicht mehr zum Fördern der Wissenschaft herbeigezogen werden, sind todt, — können aber immer wieder aufleben.

Essigsäure, Aetzkali, Natron und Ammoniak, Kochsalz, Jodtinctur, Salpetersäure, Chromsäure und Chromsalze sind nebst den Injectionen die wichtigsten Mittel der mikroskopischen Differenzirung, als wir zu dem Wendepunkt der Mikrotechnik ankommen, welchen die allgemeinere Verbreitung, nicht die erste Einführung, der ältesten Tinctionsmethode, der Carmintinction, bezeichnet.

Hier sehen wir wieder, wie die wichtigsten Entdeckungen auch in der Mikrotechnik lange Zeit ohne Einfluss auf den allgemeinen Gang der Wissenschaft bleiben können, weil die nöthigen Nebenverhältnisse, oft die scheinbar geringfügigsten, nicht vorhanden waren. Die Normannen hatten Amerika schon lange Zeit vor Columbus entdeckt; und doch hätten wir Unrecht, wenn wir die Neuzeit von jener Entdeckung datiren wollten. Der Normanne der Tinctionsmethoden war Corti [**1**] 1851, der Columbus derselben aber Gerlach [**1** und **2**] 1858.

Als derjenige, der die Carmintinction in die Mikrotechnik, wenigstens in die thierische Mikrotechnik zuerst eingeführt hat, wird ganz allgemein Gerlach bezeichnet. Für die pflanzliche Mikrotechnik wurde dieses von Hartig [**1**, **2**, **3**, **4**] und von Osborne [**1**][1] behauptet; in der That waren es Gœppert und Cohn [**1**]. Für die thierische Mikrotechnik war es dagegen Corti, welcher, wenn man von den Versuchen Gœppert's und Cohn's[2] 1849 absieht, überhaupt der Entdecker einer Carmintinctionsmethode ist, die gute Resultate gegeben hat und ihrem Erfinder bei einer hochwichtigen wissenschaftlichen Untersuchung vom grössten Nutzen gewesen ist. Die betreffende hochberühmte, auf ihrem Gebiete epochemachende Arbeit Corti's über die Gehörschnecke ist 1851 in der Zeitschrift für wissenschaftliche Zoologie erschienen; die ersten botanischen Publicationen Hartig's 1854, und die erste Mittheilung Gerlach's [**1**] 1858.

---

[1]) Die Priorität von Osborne Gerlach gegenüber wird von Beale [**1**] auf Seite 108 und in [**2**] auf S. 124 verfochten.

[2]) An der Stelle der Arbeit von Goeppert und Cohn, welche hier überhaupt in Betracht kommt, nämlich auf Seite 688, handelt es sich um die Entscheidung, ob sich die „Wimpern“ der „Wimperkörperchen“ in der lebenden Charazelle bewegen. Das Carmin betreffend wird blos Folgendes gesagt: „Die Wimpern liessen sich stets deutlich als starr und regungslos erkennen. Auch

Corti's Mittheilung über die Carmintinction ist keineswegs eine kleine, versteckte Notiz, welche leicht der Aufmerksamkeit des Lesers entgehen kann; er beschreibt vielmehr seine Methoden mit einigen Modificationen bei verschiedener Gelegenheit und ganz eingehend. Auch handelt es sich bei ihm keineswegs um blosse Spielerei, sondern um eine Reihe zielbewusster Versuche, deren ausgezeichnete Resultate, oft wiederholt, sehr betont werden. Einerseits benutzte er die Carmintinction zur Gesammtfärbung organischer Membranen, namentlich der Lamina spiralis membranacea des nach ihm benannten Organs, um sich zu überzeugen, dass die Löcher derselben nicht blos vorgetäuscht werden (p. 151); die andere und auch von ihm als die wichtigere bezeichnete Verwendung war zum Hervorheben der Zellgrenzen, besonders aber der Kerne, welche sich am tiefsten roth färben (u. A. auf p. 144, 153, 159). Aeusserungen, wie die folgende auf p. 153 wiederholen sich bei Corti mehrmals: „La meilleure méthode pour voir distinctement le noyau et les nucléoles de ces cellules est d'en mettre une préparation fraîche dans une solution saturée de sel de cuisine, et légèrement colorée avec du carmin, et de l'y laisser pendant plusieurs jours. C'est seulement après cette méthode de préparation que j'ai pu me convaincre de l'existence de noyaux et des nucléoles dans ces cellules". (Die Zellreihen der „Zona tecta" der „lamina spiralis membranacea" [1].) Auf Seite 159 lesen wir: „Un excellent moyen pour

---

wenn wir das Wasser mit Carmin mischten, vermochten wir keine Spur von einem Strudel erkennen, der übrigens auch, selbst wenn eine Bewegung stattfände, nicht sichtbar sein könnte, da der ausspritzende Strom die Pigmentkörnchen meist bei Seite stösst, dagegen färbten sich dann die Wimperkörperchen in ihrer ganzen Masse, und allein von allen im Charensafte enthaltenen Gebilden auffallend und intensiv roth, wobei ihre Structur noch deutlicher hervortrat". Erst Hartig [1] 1854 hat diese „Wimperkörperchen" als eine „modificirte Form der Zellenkerne" betrachtet. Beinahe mit demselben Recht könnte man also schon die mit Carmin gemachten Fütterungsversuche Ehrenberg's, bei welchen gewisse Bestandtheile der Infusorien ebenfalls besonders auffällig wurden, als Tinctionsversuche bezeichnen.

[1]) Wie zielbewusst die Tinctionsversuche von Corti gewesen sind, beweist u. A. noch folgende Stelle auf Seite 153: „J'ai eu beaucoup de peine pour me faire une idée exacte des rapports et du nombre de ces cellules à cause de leur grande transparence, et parce qu'elles se dérangent dans leurs rapports avec une facilité extrême. Après avoir essayé plusieurs moyens, j'ai réussi à colorer les trois rangées de cellules en question avec une solution de carmin, de façon que les parties les plus épaisses et surtout les noyaux prenaient une couleur beaucoup plus foncée, et ne me laissèrent plus aucun

rendre les contours des cellules très-distincts c'est de les traiter avec une solution de sucre assez chargée de carmin"[1]. Die beiden hauptsächlichsten Anwendungsweisen des Carmins bei CORTI sind in den durch den Druck hervorgehobenen Stellen dieser Citate (— im Original nicht hervorgehoben —) angedeutet, an anderen Stellen der Arbeit sind sie genauer beschrieben. Die ammoniakalische Carminlösung, welche später von GERLACH empfohlen wurde, hat CORTI noch nicht benutzt, ebensowenig 1854 HARTIG[2].

GERLACH färbte mit dem vermeintlichen „carminsauren Ammoniak" in sehr starker Verdünnung. In den sechziger Jahren kamen noch verschiedene andere Recepte für die Carminlösung, so zwei von THIERSCH [1] (1865), eines von BEALE (1864 in der 3. Auflage des „How to work etc.") und von SCHWEIGGER-SEIDEL (1868 s. CYON [1]). Keines von diesen hat eine wesentliche Bereicherung der Tinctionstechnik herbeigeführt. Ihr Hauptfehler ist die mehr-weniger diffuse Färbung, welche nur durch gewisse nachträgliche Behandlungen, namentlich durch Ausziehen des Ueberschusses von Farbe in angesäuerten Flüssigkeiten, in eine reinere Kernfärbung umzuwandeln ist. Wichtiger ist das von RANVIER [1] bereits 1868 zuerst empfohlene Pikrocar-

---

doute sur le nombre et les rapports de ces cellules. Il faut prendre garde que la solution de carmin ne soit pas trop foncée ce qui empèche de distinguer clairement les contours des cellules. Quand la bandelette a pris la couleur rouge juste qu'elle doit avoir pour ce but, on voit alors sur la branche antérieure des dents de la seconde rangée trois rangées de noyaux, et presque partout les contours des cellules avec une clarté suffisante".

1) Bereits auf Seite 144 wird eine ähnliche Anwendungsweise erwähnt: „. . . une solution composée d'une moitié d'eau et d'une moitié d'alcohol dans laquelle on met du sucre et du carmin en quantité suffisante".

2) Wäre es also auch richtig, dass die von GERLACH [1 und 2] empfohlene Tinctionsflüssigkeit ein carminsaures Ammoniak als färbendes Princip enthält, wie er es selbst meint, so hat GIERKE doch keinen Grund, die ersten Arbeiten von HARTIG aus 1854 unter der Rubrik „carminsaures Ammoniak" anzuführen. 1858 hat wohl auch HARTIG durch Zusatz von Ammoniak die Lösung des Carmins im Wasser entstehen lassen, er nennt aber die Farbe nicht carminsaures Ammoniak, sondern Carmin-Ammoniak (p. 154). Weiteres hierüber siehe in Abschnitt XII. Siehe auch P. MAYER [6]. Da ich weder die ersten zwei Arbeiten GERLACH's, noch die von HARTIG aus 1858 selbst einzusehen Gelegenheit hatte, so benütze ich hier mit der freundlichen Erlaubniss von Prof. P. MAYER die Notizen, welche für ihn seinerzeit H. HENKING in der Göttinger Bibliothek aus der älteren Litteratur über Carmin gesammelt hatte. Ein langes Citat aus GERLACH [2], seine Carmintinction betreffend, finde ich übrigens auch bei SCHWARZ [1] auf p. 672-674.

min[1]. Aber ein noch grösserer Gewinn war das Hämatoxylin, dessen erste brauchbare Anwendungsweise, da die WALDEYER'schen [1] Versuche mit dem Decoct des Campècheholzes 1863 misslungen waren, von BÖHMER [1] 1865 mitgetheilt wurde.

Die BÖHMER'sche Hämatoxylinmethode ist den damaligen Carmintinctionen nicht nur ebenbürtig, sondern in vieler Hinsicht sogar überlegen. In der Vorschrift BÖHMER's ist der wichtigsten Bedingung einer sofort brauchbaren, rasch und sehr distinct, die Kerne, insbesondere die sich theilenden Kerne, sehr auffällig färbenden Hämatoxylinlösung bereits genug gethan. Diese ausserordentlich einfache Bedingung habe ich, um meinen Auseinandersetzungen im betreffenden späteren Capitel etwas vorzugreifen, darin erkannt, dass die aus Krystallen von Hämatoxylin bereitete Hämatoxylintinctur, welche zur sonst wie immer zuzubereitenden Farblösung gebraucht wird, nicht frisch gemacht, sondern möglichst (bis 1 Jahr) alt, abgestanden und braun, je dunkler um so besser, sei. Und im Sinne BÖHMER's soll man die anzuwendende Lösung der Hämatoxylinkrystalle in Alcohol absolutus, welche allmählich zu einer dunkelbraunen Flüssigkeit wird, vorräthig halten. Eine solche Tinctur macht jede weitere „Reifung" des zubereiteten Farbstoffes vollkommen überflüssig. Dieser Punkt der ursprünglichen Vorschrift wurde viel zu wenig beachtet, sonst hätte man sich über das Problem der Reifung und die verschiedenen Vorschriften von Hämatoxylin nicht so viel den Kopf zerbrochen.

Auch die beste Zuthat zu der aus den Hämatoxylinkrystallen bereiteten abgestandenen Tinctur (welche durch Oxydation bereits in eine Hämateinlösung umgewandelt wurde) war für wässerige Lösungen bereits von BÖHMER im Alaun angegeben. So hat auch die Hämatoxylintechnik in den sechziger Jahren keine weitere Förderung zu verzeichnen. Dagegen hat gegen Mitte der siebziger Jahre sowohl die Hämatoxylin-, als auch die Carmintechnik eine Bereicherung erfahren, welche für lange Zeit von der grössten Wichtigkeit gewesen ist, wenn sie auch für die heutige Mikrotechnik nicht viel Werth behalten hat: ich meine die Einführung von KLEINENBERG's [1] (und bereits 1874 bei FOSTER und BALFOUR [1] p. 248) Hämatoxylin und die genaueren Angaben über die Zubereitung, sowohl als auch die

---

[1]) Die ersten Doppelfärbungen mit Carmin und nachher einwirkender Pikrinsäure hat schon 1867 SCHWARZ [1] gemacht, welcher auf dem Continent überhaupt der erste gewesen zu sein scheint, der die Pikrinsäure in die mikroskopische Färberei eingeführt hat. In England hat ROBERTS [1] die Pikrinsäure bereits 1863 als Tinctionsmittel benützt (p. 489).

weitere Verbreitung von RANVIER's ([2a] p. 95 und bereits 1875 in [2]) Pikrocarmin. KLEINENBERG's Hämatoxylin[1] ist die erste alkoholische Hämatoxylinlösung, und die erste, welche sich zum Durchfärben ganzer Organismen oder grösserer Stücke des Objectes eignet; auch ist es zur Stückfärbung allen damaligen Carminlösungen, von welchen zu diesem Zwecke das BEALE'sche Carmin noch die beste war, weit überlegen. RANVIER's Pikrocarmin war dagegen die erste handliche Form von Carmin, welche rasch färbt, leicht anzuwenden ist und die Kerne schärfer als die früheren Carmine hervorhebt.

Während aber in der Hämatoxylintechnik in den letzten Jahren der zweiten Periode eine vollkommene Stagnirung eingetreten ist, beschenkte uns in der Carmintechnik gerade das letzte Jahr der Periode mit zwei Methoden, welche alle bisherigen mit Recht in den Hintergrund gedrängt haben. 1879 hat GRENACHER [**1**] sein Alauncarmin (p. 465-466) und sein alkoholisches Boraxcarmin (p. 468) zum Gemeingut der Wissenschaft gemacht. Die beiden anderen, von ihm gleichzeitig veröffentlichten Formeln, nämlich das wässerige essigsaure Boraxcarmin (p. 466-467) und das Salzsäurecarmin (p. 468-469) haben eine viel geringere, das letzte heute mehr gar keine, Bedeutung. Dagegen ist das alkoholische Boraxcarmin für lange Zeit, mit Recht oder Unrecht, zum König der Tinctionsmittel geworden, besonders wenn wir die vergleichend anatomischen und entwicklungsgeschichtlichen Forschungen in Betracht ziehen, und diese haben ja die Biologie am Ende der zweiten und am Anfang der dritten Periode beherrscht. Inzwischen wurde auch eine andere Form des Carmins bekannt, welche, obwohl von ausgezeichneten Eigenschaften, neben dem Alauncarmin GRENACHER's, mit welchem sie gleichen Zwecken dient, doch nie recht aufkommen konnte: es ist die von CARL PARTSCH [**1**] 1877 empfohlene Alauncochenille (p. 180).

Etwa von gleichem Alter mit dem Hämatoxylin ist in der Mikrotechnik das Indigocarmin, zuerst von THIERSCH [**1**] 1865 empfohlen (s. ein Referat im Arch. mikr. Anat. Bd. I, 1865, p. 150). Eine grosse Rolle hat es dort nie gespielt und ist heute ganz vernachlässigt, obwohl es als Contrastfärbung neben dem Eosin und der Pi-

---

[1]) Wir sprechen hier vorläufig schlechthin von Hämatoxylinlösungen, da die betreffenden Farblösungen unter diesem Namen in die Wissenschaft eingeführt wurden. Eigentlich sind sie, sobald sie zum Färben geeignet sind, zu Hämateïnlösungen geworden. (S. in Abschn. XII.)

krinsäure alle Achtung verdient. (Besonders nach Fixirung in HERMANN'scher Flüssigkeit und Kernfärbung mit Safranin.)

Eine um so glorreichere Geschichte haben die Anilinfarben, welche in den siebziger und in der ersten Hälfte der achtziger Jahre das Carmin und Hämatoxylin beinahe zu verdrängen bedrohten. In den siebziger Jahren hatten sie auch noch ein ziemliches Recht dazu, da man bei der mangelhaften Technik der damaligen, oft in Stich lassenden Carmin- und Hämatoxylinfärbung in vieler Hinsicht eine Ueberlegenheit der Theerfarbstoffe anerkennen musste, zumal da die Technik der letzteren bereits in der zweiten Hälfte der siebziger Jahre, seit der Einführung des sogenannten HERMANN'schen Kernfärbungsverfahrens (1875, vor E. HERMANN [**1**] von BÖTTCHER [**2** und **3**] 1869, aber in etwas verschiedener Weise empfohlen) und durch die Arbeiten von FLEMMING u. A., eine gewisse Vollkommenheit erreicht hatte.

Die ersten Tinctionen mit einer Anilinfarbe, der „Lila-Anilin-Farbe", wurden 1862 von BENEKE [**1**] veröffentlicht (p. 980). Schon im nächsten Jahre berichtete WALDEYER [**1**] über Versuche mit Fuchsin (salzsaures Rosanilin = Anilinroth, Magenta, Solferino etc.), Aniléin (Anilin-Violett) und Pariser-Blau (Anilin-Blau); in demselben Jahre (1863) wurde das Fuchsin in England von W. ROBERTS [**1**] unter dem Namen Magentaroth und salpetersaures Rosanilin, in Deutschland von FREY ([**1**] p. 111) empfohlen; der erstere empfahl auch die Pikrinsäure zuerst (p. 489). Das Fuchsin gewann unter den Mikroskopikern bald eine grosse Beliebtheit, welche in den sechziger Jahren von keinem anderen Theerfarbstoff erreicht wurde, obwohl von solchen zu den bereits erwähnten bis 1869 noch „Parme soluble" (FREY [**5**] 1868, p. 346: ist Anilinblau [Bleu de Lyon], in Wasser löslich gemacht durch Kochen mit verdünnter Schwefelsäure) und das Safranin hinzugetreten war. Bis zu dem Ende der Periode ist die Reihe der empfohlenen Theerfarbstoffe eine sehr lange geworden; die Palme unter ihnen hat, besonders durch die Arbeiten FLEMMING's, das Safranin vor dem Fuchsin an sich gerissen, und WEIGERT bemühte sich ([**6**] 1878) umsonst den Vorrang dem Bismarckbraun zu sichern, welches nach ihm dem Carmin, Picrocarmin, Eosin und anderen Theerfarbstoffen weit vorzuziehen sei. In den siebziger Jahren fängt übrigens jene Spielerei mit einer grossen Zahl von Theerfarbstoffen, welche die Mikrotechnik mit so viel Ballast überbürdete und welche ihren Höhepunkt gegen die Mitte der achtziger Jahre erreicht hat, bereits an; die mikroskopischen Präparate fangen an in den buntesten Farben zu prangen,

ohne indessen, mit gewissen wenigen Ausnahmen, mehr zu zeigen, als die bescheidener gefärbten.

Trotz der grossen Präpotenz, mit welcher die Theerfarbstoffe in der Geschichte der Mikrotechnik sich vordrängen, wage ich es zu behaupten, dass wir ihnen in der ernstlichen Förderung unserer Wissenschaft, abgesehen von der Bacterienforschung, weit weniger verdanken, als sogar den Metallsalzen, namentlich dem salpetersauren Silber und dem Goldchlorid. Eine Ausnahme bildet nach den neuesten Erfahrungen das Methylenblau, welches in seiner Art bis jetzt unersetzlich ist und in der Zukunft eine immer grössere Rolle spielen wird, wenn sich die übrigen Theerfarbstoffe, vielleicht noch Safranin und Methylgrün, Pikrinsäure, Eosin und Säurefuchsin ausgenommen, immer mehr auf ihr eigentliches Gebiet, auf die Bacterienforschung, beschränkt haben werden.

Die Differenzirung der Gewebselemente durch Reduction von Silbersalzen ist eine beinahe ebenso alte Färbungsmethode, wie die Carmintinction. Ebenso wie bei der Carmintinction der ersten Methode (von Gerlach 1858), welche allgemeineren Anklang gefunden hat, mehrere unbeachtet gebliebene vorausgegangen sind (so von Göppert und Cohn 1849, von Corti 1851 u. s. w.), hat auch die Versilberungsmethode von Recklinghausen [**1**] 1860, die so grosses Aufsehen erregte, ihre bescheideneren Vorgänger gehabt in den Mittheilungen von Flinzer [**1**] 1854, von Hartig [**3**] 1854, welcher mit salpetersaurem Silber den Zellkern färbte, und von His [**1**] 1856.

Sowohl die Silbermethode, als auch die jüngere, von Cohnheim [**1**] 1866 eingeführte Goldmethode, welche in Betreff der Färbung, die sie giebt, ganz unrichtig mit der ersteren zusammengepaart wird, hat eine ganze Litteratur von Controversen hervorgerufen. Dagegen ist dem Osmiumtetraoxyd auch als Färbungsmittel ein ungetheilter Beifall zugekommen; die Bräunung der Gewebe bei der Osmiumfixirung ist erst in der dritten Periode, als die Färbetechnik bereits grössere Fortschritte gemacht hatte, zu einem störenden Ballast in den Augen vieler Mikroskopiker geworden.

Trotz der grossen Anzahl von Forschern, die sich mit ihnen beschäftigten, sind Silber- und Goldmethode in der ganzen zweiten Periode in ihren Kinderschuhen geblieben. Kein Wunder, dass sie manche Forscher nicht recht ernst nehmen wollten und die mit ihnen erzielten mikroskopischen Bilder nicht nur für äusserst capriciös und unzuverlässig, sondern durchweg für trügerisch erklärten, von welchen keine Schlüsse von wissenschaftlichem Werth auf die natürlichen Structuren des Objectes gezogen werden können.

Unzuverlässig, capriciös sind die beiden Methoden in der That gewesen; das waren jedoch, in geringerem Grade, sogar die Carmin- und Hämatoxylin-Tinctionen dieser Periode. Aber eben so, wie sich aus den Carmin- und Hämatoxylin-Tinctionen, allerdings erst in der dritten Periode, vollkommen sichere Methoden herausgebildet haben, steht diese Vervollkommnung auch den Silber- und Goldfärbungen bevor; bis heute ist sie blos zum Theil eingetroffen.

Das ursprüngliche Recklinghausen'sche Verfahren der Silberimprägnirung hat in der zweiten Periode gar keine erwähnenswerthe Weiterbildung erfahren; wesentlich Besseres leistet keine der zahlreichen Vorschriften. Nur eine wollen wir, als den ersten Schritt in einer Richtung, in welcher der Silberimprägnirung die halbe Forscherwelt zu erobern beschieden war, hier erwähnen: die Methode Golgi's [**1**] 1873, das Einwirkenlassen der Höllensteinlösung auf kleine Stücke des Centralnervensystems, welche vorher in doppelt chromsaurem Kali erhärtet wurden. Dieses Verfahren ist nämlich sozusagen die Embryonalanlage der berühmten Golgi'schen Schwarzfärbungsmethode durch Chromsilber.

Ebenso würde ich in der Geschichte der Goldmethode innerhalb der zweiten Periode blos ein Verfahren als solches bezeichnen, welches in gewisser Richtung wesentlich bessere Resultate zu liefern im Stande ist, als die ursprüngliche Cohnheim'sche Vorschrift. Gerlach's [**3**] Verfahren (1872) ist für allgemeine Zwecke rationeller, als das Cohnheim'sche, da nach ihm Schnitte mit dünner Lösung von Goldchlorid oder Goldchloridkalium durchtränkt werden und so die Färbung gleichmässiger erfolgen kann. Gerlach's Idee, welche in der zweiten Periode nicht weiter verwerthet wurde, ist die Grundlage, auf welcher die Goldmethode weiter entwickelt werden muss, da die intensivste Färbung der leitenden Substanz, wie ich mich überzeugt habe (cfr. p. 135 und Abschnitt XII), keineswegs von dem frischen, von fixirenden Reagentien unbeeinflussten Zustande des Objectes abhängt. Eine sehr beliebte und verbreitete Goldmethode ist das Verfahren Löwit's [**1**] 1875. Nach meiner Ueberzeugung bedeutet es der Cohnheim'schen Methode gegenüber keinen wirklichen Fortschritt; es wäre nicht geeignet gewesen, die Skepsis eines Beale's gegenüber den Resultaten Cohnheim's zu vertreiben. „Schon Cohnheim's Zeichnungen", sagt er, „erwecken in meinem Sinn Zweifel an der Genauigkeit seiner Beobachtungen und seine Methode hat, wenigstens in meinen Händen, bei weitem nicht so befriedigende Resultate geliefert, wie die, welche ich mit an-

deren Untersuchungsmethoden bekommmen habe." (BEALE [1] p. 113 und [2] p. 130 [1].)

Irrationell in der Ausführung, unzuverlässig in den Resultaten und dennoch zu den wichtigsten Entdeckungen führend, ist die Silber- und Goldmethode ein bezeichnender Repräsentant der ganzen Mikrotechnik der zweiten Periode. Im Gegensatz zu dem mikrotechnischen Nihilismus der ersten Periode, hat die zweite eine Unzahl von verschiedenen Mitteln und Methoden aufeinandergehäuft, ohne sie jedoch ihrem Wesen nach zu ergründen und in der Praxis die Wege, welche sowohl der Natur des angewandten Mittels, als auch der Beschaffenheit des behandelten Objectes am meisten entsprächen, gefunden zu haben. Die hauptsächliche Bedeutung der zweiten Periode für die Mikrotechnik sehe ich darin, dass sie die Laboratorien der Chemiker auf der Suche nach mikroskopischen Reagentien durchgestöbert und bereits beinahe alle Substanzen, welche auch nur einen Anschein von Brauchbarkeit für unsere Zwecke besassen, der Mikroskopie zugänglich gemacht hat. Dieselben näher zu prüfen und die richtigen Methoden ihrer Anwendung festzustellen, d. h. auf Grund der Vorarbeiten der zweiten Periode eine rationelle Mikrotechnik aufzubauen, ist der dritten Periode übrig geblieben. Inwiefern letztere diese Arbeit bis heute vollenden konnte, wird in den folgenden Abschnitten des Näheren dargethan. Wir wollen aber im nächsten Capitel, um den Ueberblick zu erleichtern, vorläufig die wichtigsten Errungenschaften der dritten Periode kurz registriren und die allgemeine Richtung ihrer Mikrotechnik schildern.

Viertes Capitel.
Dritte Periode.

§ 11.

Einfluss der Modegegenstände biologischer Forschung auf die Fortschritte der Mikrotechnik und umgekehrt.

Mit der höheren Entwickelung jeder Wissenschaft ist eine grosse Specialisirung in der Arbeit der Forscher verbunden. Als eine natürliche Folge dieser Specialisirung erscheint auch die der Technik, welcher sich jene Richtung des Forschens überhaupt bedient. Eine für specielle Forschungen angepasste und daher in ihrer Art

[1]) „COHNHEIM's drawings alone excite doubt in my mind concerning the accuracy of his observations, and, at least in my hands, the mode of preparation recommended has not afforded results nearly so satisfactory as those I have obtained by adopting other methods of investigation." Und diese Aeusserung ist in der Auflage von 1880 unverändert stehen geblieben!

vollkommenere Technik muss aber nicht nothwendigerweise eine einseitige Technik sein. Diese ist immer mangelhaft, weil sie, wie werthvoll die Methoden, auf welche sie sich beschränkt, sonst auch sein mögen, nie zum tieferen Ergründen ihres Gegenstandes und zu vollkommen sicheren Resultaten in der Erkenntniss der Verhältnisse führt. Und doch wird die mikrotechnische Einseitigkeit sogar der besseren Forscher auf dem Gebiete der Biologie, besonders seit den achtziger Jahren, immer auffallender.

Auf den allgemeinen Gang der Entwickelung der Mikrotechnik müsste aber jene Einseitigkeit der einzelnen Forscher von günstigem Einfluss sein, wenn die verschiedenen besseren Forscher auch in verschiedenen Richtungen arbeiteten und so die Mikrotechnik in verschiedenen Richtungen gleichzeitig vertieften; ihre eigene Entwickelung würde also dadurch keine einseitige werden. Leider sehen wir jedoch in den zwei letzten Decennien, dass sich die grosse Mehrzahl der besten Mikroskopiker zu gewissen Zeiten immer auf ein und dasselbe biologische Problem, ja sogar auf ein und dasselbe, bald mit Recht, bald mit Unrecht als besonders geeignet erachtete Untersuchungsobject wirft und sich dabei einer und derselben Mikrotechnik bedient. Dem zufolge bearbeitet man auch von der Mikrotechnik beinahe ausschliesslich nur ein gewisses Gebiet und lässt die anderen für längere Zeiten uncultivirt.

Ob nun das Auftauchen solcher Modegegenstände der biologischen Wissenschaft selbst von Nutzen oder nachtheilig ist, lassen wir diesmal dahingestellt sein; dass es aber für die Mikrotechnik im Ganzen besonders erfreulich wäre, wird man kaum behaupten können. Ein Glück noch, wenn zwei oder mehr solche Modegegenstände auf einmal existiren und die wissenschaftliche Welt unter sich theilen.

Zwei Themata dieser Art waren zu Anfang unserer Periode die Entwickelungsgeschichte der Selachier und der feinere Bau des Zellkernes, namentlich des sich in mitotischer Weise theilenden Kernes. Die hauptsächlichste Stätte, wo das erste Thema im Anschluss an die Arbeiten Gegenbaur's[1] und Semper's[2], welche sich noch mit einer

---

[1]) Die hier besonders gemeinte berühmte Arbeit C. Gegenbaur's (Untersuchungen zur vergleichenden Anatomie der Wirbelthiere. III. Heft: Das Kopfskelet der Selachier, ein Beitrag zur Erkenntniss der Genese des Kopfskelets der Wirbelthiere. X, 316 pp. 4⁰, mit 22 Tfln. Leipzig, Engelmann, 1872) ist übrigens blos zum geringsten Theil eine mikroskopische Untersuchung.

[2]) Semper, C., Die Stammesverwandtschaft der Wirbelthiere und Wirbel-

ziemlich primitiven Mikrotechnik behelfen mussten, weiter bearbeitet wurde, war die zoologische Station in Neapel. Eine grosse Anzahl der auf diesem Gebiete massgebend gewordenen Forscher arbeitete entweder hier (so u. A. BALFOUR, DOHRN, P. MAYER, VAN WIJHE) oder bediente sich wenigstens in irgend einer Weise der Mittel der Station. Bei ähnlichen Untersuchungen kam es nun zunächst hauptsächlich darauf an, den Aufbau der Organe aus den Zellen und die gegenseitigen Beziehungen der Organe zu einander durch den ganzen embryonalen Körper zu verfolgen. Dieses war zwar schon bei der Mikrotechnik der vorhergehenden Periode möglich, jedoch zu einer Zeit, wo die besten Forscher jeden aus freier Hand gemachten Schnitt auf einem besonderen Objectträger behandelten, ungemein schwierig und zeitraubend, abgesehen davon, dass die damals erzielten Schnitte sehr ungleichmässig dünn gewesen sind und sich bald als zu dick erwiesen, obwohl sie nicht einmal das Verbleiben der Elemente in dem Schnitt und in ihrer natürlichen Lage sichern konnten. Es galt also eine Technik auszuarbeiten, welche das Schneiden wesentlich erleichterte, Verschiebungen und Verletzungen der Theile im Object vorbeugte, die mögliche Schnittdicke herabsetzte und das Festliegen einer grösseren Anzahl von Schnitten auf einem und demselben Objectträger in der natürlichen Reihenfolge in gleicher Orientirung bei den weiteren Operationen sicherte. Dieser Aufgabe unterzog sich auf der zoologischen Station zu Neapel eine kleine Gruppe von Forschern, welche zum hauptsächlichsten Gründer der modernen Paraffin-Schneidetechnik wurde und in mikroskopischer Hinsicht eine Schule gemacht hat, die ich hier schlechthin die Neapler Embryologenschule der achtziger Jahre nennen will.

Eine ganz andere Mikrotechnik bildeten jene Forscher aus, welche sich, mit W. FLEMMING an ihrer Spitze, mit dem zweiten der genannten Themata beschäftigten. Sie gründeten in mikrotechnischer Hinsicht die deutsche Cytologenschule der achtziger Jahre. Ihnen kam es wieder besonders auf die gute Erhaltung und Färbbarkeit des Zellkernes an. Beinahe alle von ihnen vorgeschlagenen Fixirungsmittel — die beiden FLEMMING'schen Flüssigkeiten in erster Linie — ergeben mehr oder weniger gute Kernbilder, namentlich während der Mitose, einige verwischen aber die Zellgrenzen, andere verändern die äussere Form der Zelle, und alle richten den Zellkörper nicht selten ganz

losen — in: Arbeiten aus dem zool. zoot. Institut in Würzburg. Bd. II, 1875, p. 25-76, mit Taf. I-III —, und mehrere andere Untersuchungen über dieses Thema aus den siebziger Jahren.

arg zu. Hauptsächlich den Forschern jener Schule ist jedoch der grosse Aufschwung der feineren Kernfärbungsmethoden, in erster Linie der Technik der Theerfarbstoffe zu verdanken. Ein Auswuchs der letzteren sind verschiedene Mehrfachfärbungen, von welchen die Wissenschaft nicht einmal so viel Nutzen wie die Farbstofffabrikanten gezogen hat.

Während also die eine Gruppe von Forschern, das Object nach dem Fixiren in Sublimat oder KLEINENBERG'scher Pikrinschwefelsäure und Durchfärben des g a n z e n, u n v e r s e h r t e n Objectes womöglich in Boraxcarmin (höchstens noch in KLEINENBERG's Hämatoxylin) in Chloroform-, Benzol- oder Xylolparaffin einschmolz und in endlose Schnittbänder zerhobelte, welche sie in Canadabalsam einschloss, fixirte die andere Gruppe das vorher in kleine Theile zerstückelte Object in Chromsäure oder Osmiumtetraoxyd, meist aber in verschiedenen Mischungen von Chrom-, Osmium- und Essigsäure, färbte es ja nicht vorher und hütete sich, es mit Paraffin gründlich durchzuschmelzen. Sie zog das Einklemmen zwischen Hollundermark oder das einfache Umgiessen mit Paraffin oder Celloidin, damit sie das Object nicht durchtränken, noch immer vor und färbte die unter Alkoholbenetzung gemachten Schnitte, welche meist recht dick ausfallen mussten und auf deren Reihenfolge es ihr nicht ankam, in dem Uhrglase in verschiedener Weise. Uebrigens vermied man das Schneiden noch immer am liebsten; falls dies nicht mehr anging, wurden die Schnitte erst, nachdem sie mit einem Pinsel oder Spatel durch die verschiedenen Flüssigkeiten geführt waren, auf den Objectträger gelegt, dort ausgebreitet, mit Löschpapier von dem Vormedium befreit und so, meist in Dammarfirniss, eingeschlossen.

Demgemäss blieb die Schneidetechnik lange Zeit die schwache Seite der Cytologenschule, welche, besonders anfangs, mit Vorliebe leicht von dem fixirten Material abziehbare Häutchen zur Untersuchung wählte. Sie bezeichnete die hauptsächliche Kunst der Embryologen, das vollkommene Durchschmelzen des Objectes mit Paraffin, als eine rohe Methode, welche die histologischen Feinheiten nur zerstören kann[1]. Der

[1]) FLEMMING ([6] p. 355) urtheilt über das Durchschmelzen des Objectes mit Paraffin 1884 noch in der folgenden Weise: „Wo ich an Härtungs- und Schnittpräparaten möglichst naturgetreue Erhaltung von Zell- und Kernstructuren und dabei gleichmässige scharfe Färbungen haben wollte, habe ich das Durchfärben und Durchschmelzen überhaupt niemals angewendet, denn es ist dafür keine durchweg sichere Methode. Ich weiss zwar aus reichlicher Erfahrung, dass man damit bei sehr sorgfältigem Verfahren und bei geeigneten Objecten ganz ebenso gute Erfolge haben kann, als anderweitig, man ist dessen aber nicht ganz sicher, und kann bei ganz gleichem Verfahren in einem Falle Verzerrungen durch die Paraffindurch-

Embryologe dagegen, welcher auf diese histologischen Feinheiten nicht neugierig war, hatte noch mit der Beschreibung der mikroskopischen Topographie der einzelnen Entwickelungsstadien seines Objectes vollauf zu thun und war ganz zufrieden, wenn ihm die Reihen der auffallend gefärbten Zellkerne als Wegweiser beim Verfolgen der Keimblätter dienten. Die Ueberzeugung wurde noch nicht allgemein — was sie übrigens auch heute noch nicht ist — dass man die wahre Bedeutung der im

---

schmelzung (oder Celloidindurchtränkung) und durch die Wiedererstarrung erhalten, während im anderen Alles tadellos conservirt sein kann. . . . Wo ich also keine ganz gleichmässigen Schnittserien zu machen habe, und die Schnitte nicht unter 10 bis 15 μ Feinheit zu haben brauchen, bette ich auch bei allen anderen Vorbehandlungen" — als der Fixirung in dem stärkeren Chrom-Osmium-Essigsäuregemisch — „meine Präparate stets noch in Durchtränkung mit Alkohol in Paraffin von möglichst geringem Wärmegrad, oder auch Hollundermark, oder mit Hülfe von Celloidin ein, schneide sie unter Alkoholbenetzung und färbe die Schnitte; das macht nicht grössere, eher geringere Mühe als das Durchschmelzungsverfahren, wenn dieses ganz sorgfältig gehandhabt sein soll, und gestattet, was ausser der sicheren Conservation eine Hauptsache ist, viel freieren Spielraum im Tingiren und in der sonstigen Behandlung".

Daran, wie viel die feinere Beschaffenheit der Zellen — ganz abgesehen von den Verzerrungen der Lage und Form und von dem Verlust eventuell grosser Mengen der Bestandtheile des Gewebes — in dem durch totale Durchtränkung mit der Einbettungsmasse nicht geschützten Object durch den mechanischen Insult des Messers beim Schneiden leiden kann, und wie sehr dieser Insult durch die richtige interstitielle und intracelluläre Einbettung vermindert wird, haben die Cytologen gar nicht gedacht. Auch das scheinen sie damals meist nicht gewusst zu haben, dass man die trocknen Paraffin- oder feuchten Celloidinschnitte direct vom Messer auf dem Objectträger befestigen und so in jeder beliebigen Weise auch nachträglich färben kann und damit auch die verschiedenen Beschädigungen der Schnitte beim Uebertragen aus einem Uhrglase in das andere vollkommen vermeidet. — Andere urtheilten über die mikrotechnische Schablone der Embryologen, über „die Methode der Normal-Anatomie" noch ungünstiger. So sagt Brass ([1] p. 49), dass man „die complicirten und verwickelten Einbettungs- und Schnittmethoden", in welchen sich gerade die Neapler Embryologenschule am meisten auszeichnete, möglichst zu vermeiden hat, wo es auf Conservirung feinster Structurverhältnisse ankommt. Nach seiner und mancher Anderer Meinung „vernichten" jene Methoden „zum Theil die feinere Structur der Zellen vollständig und sind ganz dazu angethan, falsche Bilder zu erzeugen". Uebrigens haben die betreffenden Forscher meist gar keinen Begriff von der schon damals erreichten Höhe der Schneidetechnik der Neapler Mikrographen gehabt, wie es z. B. aus der citirten Arbeit von Brass (p. 49) ganz deutlich hervorgeht. Dagegen war der Neapler Schule die hochentwickelte Fixirungs- und Färbungstechnik der Cytologen ziemlich fremd geblieben.

embryonalen Körper zu verfolgenden Elemente vielfach erst dann erkennt, wenn auch ihr feinster histologischer Charakter durch die Fixirung erhalten und durch die Färbung differenzirt ist. Deshalb blieben die Embryologen kühl den Bemühungen gegenüber, bessere Fixirungsmittel für die histologischen Feinheiten zu erfinden, und deshalb sprachen sie mit einer gewissen Geringschätzung von den Theerfarbstoffen[1].

So standen sich in der ersten Hälfte der achtziger Jahre zwei mikrotechnische Schablonen ziemlich schroff gegenüber, und während sie selbst mehr und mehr vervollkommnet wurden, blieb das übrige Feld der Mikrotechnik eine Zeit lang beinahe ganz unbearbeitet.

Die Schablone, nach welcher die Embryologen im Vorbereiten ihres Objectes zur mikroskopischen Untersuchung verfuhren, ist in erster Linie auf Grund der Mittheilungen von W. Giesbrecht [**1**] und [**2**] und P. Mayer [**1**, **2**, **3** und **4**] resp. von A. Andres, W. Giesbrecht und P. Mayer festgestellt worden. Ebenso wichtig aber, wie diese eigenen Mittheilungen, waren die verschiedenen Kunstgriffe der genannten Forscher, insbesondere von P. Mayer, welche, auf der zoologischen Station von Neapel gewissermaassen zur Tradition geworden, erst durch andere eine Veröffentlichung erfuhren. Ueberhaupt war die zoologische Station von Neapel das eigentliche Centrum, von wo sich die moderne Paraffin-Schneidetechnik über die ganze wissenschaftliche Welt verbreitete. Umfassende Referate über die in der Station übliche Methodik von Forschern verschiedenster Länder trugen dazu bei[2]. Gerade durch den Vergleich eines solchen aus dem Jahre 1884 von A. Gravis [**1**] mit der P. Mayer'schen Beschreibung [**1**] der bis zu dem Jahre 1879 auf der Station üblichen und noch ganz das Gepräge der zweiten Periode an sich tragenden Methoden sieht man den grossen Fortschritt in dieser Richtung am besten.

---

[1]) Paul Mayer sagt ([**1**] p. 20-21): „Von der Verwendung der Anilinfarbstoffe ist man in der Zool. Station völlig zurückgekommen . . . . So lange es sich also nicht um Sichtbarmachung von Differenzirungen in Membranen, von Stadien des Verknöcherungsprocesses u. s. w. handelt, kann von der grossen Gruppe dieser Mittel völlig abgesehen werden". Die hauptsächliche Ursache dieses absprechenden Urtheils liegt jedoch darin, dass die Neapler Mikrographen Ende 1879 mit der Technik der Tinction durch Theerfarbstoffe, welche doch durch Flemming bereits eine ziemliche Vervollkommnung erfahren hatte, ebenso wenig vertraut waren, wie die meisten Cytologen der deutschen Laboratorien noch 1884 mit der Neapler Schneidetechnik. Dieses geht aus den wenigen Zeilen, welche P. Mayer in seiner citirten Arbeit den Theerfarbstoffen widmet, deutlich genug hervor.

[2]) So unter Anderen Whitman, C. O. [**1**] 1882, Gravis [**1**] 1884, Castellarnau y de Lleopart [**1**] 1885 u. s. w.

Die cytologische Schablone der Behandlung des Untersuchungsobjectes verdankt ihre Entstehung, wie erwähnt, in erster Linie den Mittheilungen von W. Flemming vom Jahre 1878 an ([**1**] 1878, [**1a**] 1879, [**2**] und [**2a**] 1880, [**3**], [**4**] und [**4a**] 1881), welche in seinem ausführlichen Werke über Zellsubstanz, Kern und Zelltheilung [**5**] 1882 zusammengefasst und auch in methodischer Hinsicht vermehrt wurden. Zu diesen kam endlich [**6**] 1884 die Veröffentlichung des stärkeren Chrom-Osmium-Essigsäuregemisches, welches viele Mikrographen lange Zeit als ein universales Fixirungsmittel betrachteten.

Je nachdem nun ein Forscher in der Schule der Cytologen oder der Embryologen seine mikrotechnischen Kenntnisse gesammelt hatte und ihm dort die betreffende Schablone als die allein seligmachende gepriesen wurde, verfuhr er, was für einen Gegenstaud und was für ein Problem er auch vor sich hatte, meist ausschliesslich entweder nach der einen oder nach der anderen. Mit welchem Nutzen für die Wissenschaft, ersehen wir zur Genüge aus solchen histologischen Arbeiten der achtziger Jahre, welche nach Paraffinserien des in toto tingirten Objectes gemacht wurden, oder aus solchen embryologischen Arbeiten, welchen einzelne, in dem Uhrglase tingirte Schnitte des zwischen Hollundermark eingeklemmten Embryos als Grundlage dienten.

Erst sehr allmählich kam es wenigstens zur Combinirung der Vortheile der beiden Schablonen, wodurch zugleich ein grosser Theil der beiderseitigen Nachtheile vermieden wurde. Auf Seiten der Cytologen war hierbei das Wichtigste, dass auch sie das Schonende des vollkommenen Durchtränkens der Gewebe mit der Einbettungsmasse einsahen und anfingen, kürzere Serien sehr viel dünnerer Schnitte als früher zuerst auf dem Objectträger festzulegen und dann den weiteren Manipulationen des Färbens etc. zu unterwerfen. Die Embryologen dagegen liessen die Pikrinschwefelsäure bei Seite und kümmerten sich etwas mehr um eine feinere Fixirung; auch sie fingen an, anstatt das ganze Object die auf dem Objectträger aufgeklebten Schnitte zu färben.

Andererseits wurde bei den Cytologen die Hegemonie der Chrom-Osmium-Essigsäure nach und nach erschüttert. Als auch die Structur des ruhenden Kernes und des Zellleibes ihre Aufmerksamkeit mehr in Anspruch zu nehmen begann, wurde die Chromsäure in dem Osmium-Essigsäuregemisch durch Metallsalze, zuerst durch Platinchlorid, dann für gewisse Zwecke auch durch Kali bichromicum und Eisenchlorid ersetzt. Auch der Alkoholeisessig und die Mischungen von Pikrin-

säure mit Osmiumtetraoxyd und Essigsäure, besonders aber die concentrirte wässerige Sublimatlösung[1] kamen zu ihren Rechten. In den letzten Jahren wurden endlich die chromatischen Figuren des sich theilenden Kernes von dem Schauplatz cytologischer Beobachtung beinahe ganz verdrängt, und Beschaffenheit und Verhalten von Attractionssphäre und Centrosoma — nebst dem Bau des Centralnervensystems sowie Verlauf und Endigung der Nerven — zu dem Modethema feinerer mikroskopischer Untersuchung. Das in den Vordergrund getretene Centrosoma hat aber besonders auf Grund der Arbeiten von van Beneden und Neyt ([1] 1887), F. Hermann ([1] 1889 und [2] 1891), Flemming ([8] und [9] 1891) und M. Heidenhain ([1] 1892 und [2] 1894) auch die cytologische Technik ganz wesentlich verändert. Nun sind die allerdünnsten Schnitte zum Erforderniss geworden, welche gar nicht anders, als nach vollständigem Durchtränken des Objectes mit der Einbettungsmasse gemacht und gar nicht anders, als auf dem Objectträger durch Capillarattraction fixirt, richtig gefärbt werden können. Von den Farbstoffen steht entschieden das so viele Modificationen in der Anwendung gestattende und so feine Nuancen in der Färbung gebende Hämatoxylin (d. h. meist Hämateïn) obenan; gegen die Hämatoxylinfärbungen[2] wird sich weder die sonst auch sehr gerühmte und zur Mode gewordene Ehrlich-Biondi'sche Färbung mit dem Gemisch von

---

1) Bei M. Heidenhain ([1] p. 113) lesen wir 1892 über die Anwendung des Sublimats durch die Cytologen Folgendes: „Es ist mir nicht recht begreiflich, warum dieses Mittel, welches die feinsten Details der Kern- und Protoplasmastructur so vorzüglich erhält, bisher noch so wenig Eingang in die Technik der Cellularhistologie finden konnte". Nach unserer Ueberzeugung ist der Grund, weshalb die Cytologen das Sublimat nicht angewandt haben, derselbe, aus welchem die Embryologen nicht zur Chrom-Osmium-Essigsäure greifen wollten. Jede Schule brauchte jene Mittel mit Vorliebe, deren Anwendung von ihr selbst ausgegangen ist; und das Sublimat hat sich in seiner modernen Verwendung von Neapel aus verbreitet. Die Koryphäen, welche gewisse Mittel in Mode gebracht haben, sind für dieselben zu sehr eingenommen, um es für nothwendig zu finden, auch etwas Anderes zu versuchen, auch sind sie in dieser Beziehung oft etwas zu bequem und wollen manchmal deshalb keine ihnen bisher fremde Methodik sich aneignen. Und wie die Grossen zu arbeiten pflegen, so trachten es auch die Kleinen zu machen. Revolutionäre Schüler werden todt gemacht, und nur wenn das nicht gelingt, ändert sich die Technik der Schule.

2) Noch immer spreche ich hier, um einen allgemeineren Ausdruck gebrauchen zu können, schlechthin von Hämatoxylinfärbungen, ohne in Betracht zu ziehen, was für eine aus dem Hämatoxylin derivirte chemische Substanz die Färbung selbst bewirkt oder in der Farblösung bereits vorhanden ist.

Rubin, Orange und Methylgrün, noch die FLEMMING'sche Dreifachfärbung mit Safranin, Gentianaviolett und Orange auf die Dauer behaupten können. Es ist übrigens unter dem Zwange der Schwierigkeiten des zuletzt erwähnten Modethemas wieder eine ganz neue Methodik erst im Begriffe sich zu entwickeln, welche für eine Reihe von Jahren zur neuen Schablone cytologischer Mikrotechnik zu werden droht.

Wenn nun auch das Auftauchen von Modemethoden mit dem eines Modethemas nicht immer so deutlich in ursächlichen Zusammenhang gebracht werden kann, und wenn man auch nicht leicht zu erkennen vermag, welches von beiden die Ursache und welches die Wirkung sei, so sehen wir in der Geschichte der Mikrotechnik doch wiederholt das Gegentheil des im Obigen erörterten Falles, dass nämlich neu aufgetauchte, glückliche Methoden gleichzeitig eine auffallend grosse Anzahl von Mikrographen zu einem Thema treiben, welches gerade in der betreffenden Methode ein ausgezeichnetes Hülfsmittel der Bearbeitung gefunden zu haben scheint. So stellen neue Methoden neue Modethemata in den Vordergrund.

Entschieden so ist es mit dem zweiten hauptsächlichsten Modethema der mikroskopischen Forschung der Gegenwart, mit dem Bau des Centralnervensystems und der Versorgung des Körpers mit Nerven, sowie mit den drei neuen Methoden der Behandlung des Nervensystems gegangen, welche in kurzer Zeit nacheinander, von 1884 bis 1886, veröffentlicht, oder wenigstens dann erst in weiteren Kreisen bekannt geworden sind. Diese drei Methoden sind die WEIGERT-sche Hämatoxylinfärbung in ihrer ursprünglichen Form 1884 (WEIGERT [**1**]), die EHRLICH'sche, fälschlich so genannte vitale Methylenblaufärbung 1886 (EHRLICH [**1**]) und die GOLGI'sche Schwarzfärbung durch Chromsilber, die in ihrer ursprünglichen Form zwar bereits aus 1873 (GOLGI [**1**]) datirt und schon 1880 (GOLGI [**2**]) zweckmässig modificirt wurde, jedoch erst nach dem Erscheinen des Hauptwerkes von GOLGI (1886 [**3**]), besonders nachdem KÖLLIKER (1887 [**1**]) auf sie aufmerksam gemacht hatte, allgemeinere Anwendung fand.

Nun haben alle drei Methoden eine ausgedehnte Litteratur hervorgerufen; das, was besonders auf Grund der GOLGI'schen Schwärzung des mikroskopischen Bildes zusammengeschrieben wurde, macht selbst eine ganze Bibliothek aus. Die Herstellung und die, wenn auch oft peinlich genaue, bisher jedoch fast immer kritiklose Beschreibung von GOLGI'schen Bildern nimmt heute eine unverhältnissmässig grosse Menge von wissenschaftlichen Arbeitskräften für sich in

Anspruch. Die grosse Förderung, deren sich unsere Kenntnisse von dem Centralnervensystem der Wirbelthiere durch die Golgi'sche Methode zu erfreuen hatten, ist nicht zu leugnen; nicht weniger wurde aber durch sie in der letzten Zeit auch litterarisch gesündigt, und es deutet auf keine gesunden Zustände in der Wissenschaft, wenn die ganze, scheinbar glänzende forscherische Laufbahn gewisser Mikrographen auf einer so einseitigen und Alles in Allem doch rohen Methodik beruhen kann.

Dieses Urtheil hoffen wir im XII. Abschnitt des vorliegenden Buches durch eine eingehende Kritik der Golgi'schen Methode rechtfertigen zu können. Hier dagegen wollen wir eine weitere Erörterung des Zusammenhanges zwischen dem Erscheinen von Modemethoden und Modethemata mikroskopischer Forschung unterlassen und in den folgenden Paragraphen lieber die wichtigsten Momente der Entwickelung der Mikrotechnik in der dritten Periode kurz aufzählen.

§ 12.

Neue Mittel und Methoden der dritten Periode: Fixirungstechnik.

Die Mikrotechnik hat in der dritten Periode besonders grosse Fortschritte gemacht: **a**) im Haltbarmachen natürlicher mikroskopischer Structuren bei den Eingriffen der weiteren Behandlung und für Dauerpräparate (Fixirungstechnik), **b**) im Zerlegbarmachen des Untersuchungsobjects in feine Schnitte ohne mechanische Beschädigung der feinsten Structuren (Einbettungstechnik), im Schneiden selbst und in der Befestigung der Schnitte auf dem Objectträger in gewünschter Lage (eigentliche Schneidetechnik), **c**) im Auffällig- oder wenigstens Sichtbarmachen fixirter, seltener erst nachträglich zu fixirender Structuren (Färbetechnik). In anderen Richtungen der Mikrotechnik (Untersuchungsmethoden des lebenden Objectes, Macerirungsmethoden, Injectionstechnik, Technik des Aufbewahrens mikroskopischer Präparate und die des Untersuchungsobjectes, aus welchem erst später mikroskopische Präparate verfertigt werden sollen, mit einem Wort die Conservirungsmethoden etc.) hat die dritte Periode unvergleichlich weniger Fortschritte herbeigebracht, als in den drei obigen. Unsere Aufzählung der neuen Methoden wird sich also in diesem Paragraphen auf jene beschränken.

Die Fortschritte auf unserem Gebiete können überhaupt erstens darin bestehen, dass den bereits eingeführten Mitteln entweder durch Constatiren bekannter Vorzüge bei immer mehr Objecten oder durch Entdeckung von neuen Vortheilen eine allgemeinere Verbreitung ge-

sichert, oder aber die Art und Weise ihrer Anwendung in rationeller Weise modificirt wird (Vertiefung der Technik); zweitens darin, dass früher empfohlene und allgemein gebrauchte Mittel als irrationell, unzweckmässig oder wenigstens überflüssig nachgewiesen und so mehr und mehr verlassen werden (Reinigung der Technik); drittens darin, dass man neue, in der Mikrotechnik bisher nicht angewandte oder für andere Zwecke gebrauchte Mittel oder neue Combinationen von Mitteln einführt (Bereicherung der Technik).

Was nun zunächst die Fixirungstechnik, und zwar Fortschritte der ersten Art betrifft, so wollen wir vor Allem das Sublimat erwähnen.

Nachdem die erste Empfehlung dieses Fixirungsmittels[1] von Blanchard (angeblich bereits viel früher von Kölliker und 1855 von Virchow: s. im Referat über Technik des Jahres 1880 [in Zool. Jahresbericht für 1880, I. Abth. p. 41, von Max Flesch]) in Vergessenheit gerathen war, wurde es, wie im § 9 bereits erwähnt, durch A. Lang [1] als Fixirungsmittel in die Mikrotechnik eingeführt, und zwar schon am Ende der zweiten Periode, 1878. Bei Forschern, welche sich mehr nur mit der mikroskopischen Topographie des Thierkörpers beschäftigten, also bei Anatomen (Zoologen) und Embryologen, hat das Sublimat schon in der ersten Hälfte der achtziger Jahre allgemeinen Eingang gefunden. Bei feineren histologischen Untersuchungen, besonders bei Wirbelthieren, lernte man es erst später würdigen (R. Heidenhain [3] 1888). Für cytologische Untersuchungen wurde es, wie gesagt, sogar erst in den letzten Jahren, zuerst von M. Heidenhain [1] 1892, empfohlen.

Alle die verschiedenen Mittel, deren Combination mit Sublimat man später empfahl, hatte, mit Ausnahme des Osmiumtetraoxyds und des Alkohols, schon Lang 1878 [1] und 1879 [2] versucht, so Kochsalz, Essigsäure, Pikrinsäure (in Form der Kleinenberg'schen Pikrinschwefelsäure) und Alaun. Die Combination mit Alaun wurde von anderen Forschern nicht weiter benützt, und auch die Pikrinschwefelsäure wurde durch einfache, kaltgesättigte Pikrinsäurelösung ersetzt. Letztere Combination, das Rabl'sche Pikrinsublimat (aus mündlichen Mittheilungen schon seit Jahren als solches bekannt, von Rabl selbst aber erst 1894 [4] veröffentlicht), mit oder ohne Zusatz von Essigsäure, besonders aber das Sublimat mit einer

---

[1]) Die Rolle, welche das Sublimat in den Einschlussmedien spielte, haben wir schon im 8. Paragraph besprochen.

grösseren Menge von Essigsäure, bis zu 25 % (angeblich zuerst von van Beneden empfohlen), der Sublimateisessig, sind entschieden als ein Gewinn für die Mikrotechnik zu betrachten; ebenso die Anwendung der heissen Sublimatlösungen, wo es sich um sehr schwer durchdringliche, oder sehr contractile Objecte handelt (zuerst ebenfalls von Lang, aber aus anderen Gründen, für Turbellarien, empfohlen), und die der alkoholischen Lösungen von Sublimat. Eine Lösung von 3-4 gr. Sublimat und 1/2 gr. Kochsalz in 50 % Alkohol, der Sublimatalkohol, wird sich, nach unserer Ueberzeugung, als das für die Mehrzahl der Objecte beste Mittel der allgemeinen, nicht specielle Zwecke verfolgenden Fixirung bewähren.

Beinahe so hoch wie der Sublimatalkohol steht in dieser Hinsicht die kalt gesättigte wässrige Lösung von Pikrinsäure. Dass die vorzüglichen Eigenschaften derselben vielfach nachgewiesen wurden, betrachten wir als einen nicht geringen Fortschritt, zumal da dadurch die Pikrinschwefelsäure (ebenso auch die Pikrinsalzsäure, weniger die Pikrinsalpetersäure) noch mehr von ihrer Berechtigung verloren hat. Es ist ja ein Fortschritt der zweiten Art, dass die Pikrinschwefelsäure immer weniger, von namhaften Forschern beinahe gar nicht mehr, gebraucht wird. Der Fortschritt erscheint um so grösser, als die Pikrinschwefelsäure 1881 (eigentlich 1879) von P. Mayer [**1**], und noch einige Jahre weiter auch von Anderen, als das wichtigste Fixirungsmittel gepriesen wurde. P. Mayer verfuhr in der Anwendung der Pikrinschwefelsäure wenigstens mit einer gewissen Kritik, indem er ihre Vorzüge besonders bei Seethieren betont und sie für manche Dinge als weniger geeignet dahinstellt. Andere Forscher wollten alles ohne Unterschied nur mit Pikrinschwefelsäure behandelt haben.

Ebenso vortheilhaft ist es für die Mikrotechnik, dass die Anwendung der Chromsäure und der chromsauren Salze, sammt der der Müller'schen Flüssigkeit, für allgemeine Fixirungszwecke aus der Mode gekommen ist. Die chromsauren Salze zu discreditiren bemühten sich Flemming und seine Schüler am meisten. Wenn wir ihnen in der Verdammung der Chromsalze als allgemeiner Fixirungsmittel auch vollkommen Recht geben, so müssen wir doch hinzusetzen, dass die Chromsalze, besonders die Müller'sche Flüssigkeit, für gewisse specielle Zwecke — ganz abgesehen von den Fällen, wo die Fixirung mit ihnen eine Bedingung des Eintretens specieller Tinctionen, wie der Waldeyer'schen Nervenmarkfärbung und der Golgi'schen Schwarzfärbung, ist — doch rehabilitirt zu werden verdienten, namentlich wo man gewisse intra- und extracelluläre Zellproducte fixiren will. (Vergl. den V. Abschn.) Auch

als Macerationsmittel bleibt die Müller'sche Flüssigkeit eines der besten. Im Gegensatz zu den chromsauren Salzen hat die Chromsäure gerade in Flemming den eifrigsten Vertheidiger gefunden (s. z. B. [4] p. 327-328). In der letzten Zeit hat aber sogar Flemming die Chromsäurefixirungen aufgegeben; diese werden, ausser für das Centralnervensystem der Wirbelthiere, wenn es hier nur auf das Verfolgen mikrotopographischer Verhältnisse ankommt, nur noch dann angewendet, wenn blos die makroskopischen Formen bewahrt werden sollen und auch die Billigkeit der Fixirung ins Gewicht fällt.

Das Schicksal der Chromsäure theilen ungefähr auch die unvermischten wässrigen Lösungen des Osmiumtetraoxyds. Während dieses in den siebziger Jahren eine Zeit lang so zu sagen das universale Fixirungsmittel für feinere Structuren (welche sie aber nicht erhalten hat) gewesen ist, beschränkt sich ihre Anwendung heutzutage mehr und mehr auf gewisse Thiergruppen (Spongien, Protozoen etc.), wo man sie noch immer nicht entbehren kann, und auf Momentpräparate im histologischen Practicum.

Das über die Chromsäure und das Osmiumtetraoxyd Gesagte gilt jedoch von ihren Mischungen miteinander und mit Essigsäure noch nicht. Im Gegentheil ist die von Flemming eingeführte Chrom-Osmium-Essigsäure für eine grosse Anzahl von Forschern als das beste Fixirungsmittel auch für allgemeine histologische Zwecke. Ihre erste Form, die schwache Chrom-Osmium-Essigsäure, welche Flemming 1882 ([5] p. 381) veröffentlichte, verlor, als derselbe Forscher [6] 1884 mit der stärkeren Formel hervortrat, sehr viel von ihrer Wichtigkeit, doch wird sie hie und da heute noch gebraucht[1]. Beide Mischungen wurden eigentlich blos zur Fixirung der Kernstructuren, namentlich der chromatischen, eingeführt; die erste wurde ziemlich kühl empfangen, die zweite jedoch nicht nur für das Studium der Karyokinese, sondern, wie gesagt, auch für allgemeine histologische Zwecke freudig aufgenommen und als die wichtigste Errungenschaft der modernen Fixirungstechnik begrüsst.

Seit den Flemming'schen Flüssigkeiten herrschen in der Mikrotechnik beim Studium feinerer Structurverhältnisse die verschiedenen Combinationen bereits bekannter Mittel. Die zweite Periode hat, wie erwähnt, schon alle für das Fixiren brauchbaren Stoffe aufgestöbert; die dritte hat keinen neuen von irgend einer Wichtigkeit zu finden gewusst.

---

[1]) So u. A. von O. Hertwig (Vergleich der Ei- und Samenbildung bei Nematoden in Arch. f. mikr. Anat. Bd. XXXVI, 1890, p. 1-138, Taf. I-IV, auf p. 22 u. 135), und Flemming selbst ([9] p. 296).

In der Mehrzahl der Fixirungsgemische der dritten Periode ist die Essigsäure als das wesentlichste fixirende Princip zu betrachten, und zwar deshalb, weil sie viel rascher, als die übrigen Bestandtheile der betreffenden Gemische zur Wirkung kommt; die letzteren dienen lediglich dazu, die weitere Einwirkung der Essigsäure von einem gewissen Zeitpunkt an, am besten sehr bald, zu paralysiren und das Gewebe gegen die weitere Behandlung viel widerstandsfähiger als die Essigsäure allein zu machen. Zu diesem Zwecke hat sich von den beiden Mitteln, mit welchen Flemming die Essigsäure combinirte, die Osmiumsäure besser als die Chromsäure bewährt. Deswegen hat man die Osmiumsäure auch beibehalten, die Chromsäure dagegen, welche wieder die Färbbarkeit der chromatischen Substanz im wichtigsten kernfärbenden Theerfarbstoff, im Safranin, ganz besonders erhöht, mit anderen Mitteln zu ersetzen oder auch wegzulassen gesucht.

So empfahl F. Hermann [1] 1889 anstatt Chromsäure Platinchlorid, welche den Kernen eine vielleicht noch bessere Tingirbarkeit in Safranin als die Chromsäure verleiht; und die leider sehr theure Hermann'sche Platinchlorid-Osmium-Essigsäure hat sehr bald allgemeine Anerkennung gefunden und die Flemming'sche Lösung vielfach verdrängt. Lee hält sie sogar für die „finest fixative yet discovered“ ([3] p. 35). Ebenso gut, für manche Fälle sogar besser als durch Platinchlorid, ist die Ersetzung der Chromsäure durch Pikrinsäure, welche zwar 1882 schon Flemming erwähnt ([5] p. 381), aber neuerdings in anderer Zusammensetzung zuerst Otto vom Rath [2] 1891 wieder vorgeschlagen hat. Noch bessere Dienste aber als beide leistet hier das Sublimat. Die Sublimat-Osmium-Essigsäure übertrifft, falls man sie in der im V. Abschnitt beschriebenen Weise anwendet, in den meisten Hinsichten alle übrigen Fixirungsmittel. Gewisse Nachtheile von ihr, welche z. B. bei embryologischen Untersuchungen schwer ins Gewicht fallen können, verursachen blos in der weiteren Bearbeitung des Materials Schwierigkeiten und sind bei eigentlichen histologischen Untersuchungen kaum merkbar.

Die Essigsäure, namentlich der Eisessig, tritt als fixirendes Princip in den Fixirungsmethoden, wo kein Osmiumtetraoxyd mit in das Spiel kommt, natürlich noch mehr in den Vordergrund. Dass der Eisessig ohne andere Zuthat, bei kurzer Einwirkungsdauer, für gewisse Zwecke und von gewissen Bestandtheilen der Zelle vorzügliche Fixirungen liefert, haben uns zuerst 1887 van Beneden und Neyt [1] gezeigt. Den Eisessig mit Alcohol absolutus zu combiniren hat dagegen bereits 1886 Carnoy ([2]: ein Th. Eisessig

auf 3 Thle. Alcohol absolutus) versucht, und zwar mit demselben guten Erfolg, wie 1887 van Beneden und Neyt ([**1**]: gleiche Theile von Eisessig und Alcohol absolutus). Von dieser Zeit an werden beide Fixirungsmittel, der Eisessig und der Alkohol-Eisessig, vielfach angewandt. Mit Unrecht werden sie aber auch für allgemeine histologische Zwecke empfohlen.

Wenn nun auch die Essigsäure und das Sublimat in ihren verschiedenen Combinationen mit anderen Mitteln als die am meisten geschätzten fixirenden Principien zu bezeichnen sind, so fehlt es doch in der letzten Zeit keineswegs an Urtheilen, welche Essigsäure und Sublimat verdammen. So ist eine kleine cytologische Schule entstanden, mit R. Altmann an ihrer Spitze, welche besonders die Essigsäure aus dem Arsenal der cytologischen Untersuchungen vollkommen auszumerzen bestrebt ist. Ebenso wie Flemming Anfang dieser Periode die chromsauren Salze als cytologische Fixirungsmittel verpönte, die Essigsäure dagegen hoch stellte, verurtheilte unlängst Altmann ([**1**] und [**2**]) die Essigsäure und pries die chromsauren Salze, besonders das Kali bichromicum. Sein bevorzugtes Fixirungsmittel war aber das Osmiumtetraoxyd und das Gemisch von Lösungen von Osmiumtetraoxyd- und Kali bichromicum. Zu diesen gab er letzthin (1892) auch das molybdänsaure Ammoniak mit geringem (z. B. 0·25-procentigen) Zusatz von freier Chromsäure [**3**].

Viel wichtiger als seine verschiedenen Gemische ist — heute noch leider nur aus theoretischen, nicht praktischen Gesichtspunkten — das von Altmann 1890 [**1**] eingeführte Princip des Austrocknens frischer Gewebsstücke unterhalb der kritischen Temperatur (mehr als 20° C. unter Null), im Vacuum. Durch ein solches Austrocknen wird keine eigentliche Fixirung herbeigeführt, oder sollte wenigstens keine Fixirung eintreten. Der eventuelle grosse Vorzug der Methode besteht gerade in der durch sie gegebenen Möglichkeit, das Object ohne vorheriges Fixiren einzubetten, in feine Schnitte zu zerlegen und die Fixirung erst an den auf dem Objectträger festsitzenden Schnitten vorzunehmen. Eine solche nachträgliche Fixirung der Schnitte könnte gegenüber der Fixirung in toto oft dieselben Vortheile haben, wie die nachträgliche Färbung der Schnitte gegenüber der Färbung des ganzen Objectes (s. meine eigenen Versuche im IV. und V. Abschnitt).

Und damit sind wir zu dem letzten wichtigen Moment in der Geschichte der Fixirungstechnik der dritten Periode angelangt. Wir müssen jedoch noch einen grossen Fortschritt derselben besonders er-

wähnen, welcher zwar nicht auf ein gewisses Jahr oder auf eine gewisse Schrift zu beziehen ist, sich aber ganz entschieden erst in der dritten Periode allmählich bewerkstelligt hat. Ich meine die Erkenntniss des Wesens und der Zwecke des Fixirens, welche die erste Grundlage einer rationellen Fixirungstechnik ist.

Erst auf Grund dieser Erkenntniss — worin sie besteht, zeigen wir des Näheren im V. Abschnitt — wird es uns möglich, die einzelnen vorgeschlagenen Methoden richtig zu beurtheilen und zu würdigen. Es scheint uns dadurch geboten, die Fixirungsmethoden in zwei Gruppen zu theilen, welche ganz verschieden beurtheilt werden müssen. Eine Fixirung kann entweder eine allgemeine oder eine differenzirende sein. Eine allgemeine Fixirung zeigt uns sämmtliche oder wenigstens die meisten Structurverhältnisse eines Objectes in nahezu gleichem Grade wohl erhalten und geeignet, durch die gewöhnlichen allgemeinen Tinctionsmethoden (z. B. Carmin oder Hämatoxylin) deutlich hervorgehoben zu werden; sie dient zur allgemeinen mikromorphologischen Orientirung. Eine differenzirende Fixirung zerstört oder verhüllt gewisse Structurelemente, um andere desto deutlicher hervortreten zu lassen und specifischen Tinctionen besonders zugänglich zu machen; oder sie erhöht wenigstens die specifische Tingirbarkeit gewisser Structurelemente, während die übrigen, mehr oder weniger gut erhalten, einer allgemeinen Tinction noch fähig bleiben. So kann ein Mittel ausgezeichnete differenzirende Fixirungen in einer gewissen Richtung bewirken, aber zum allgemeinen mikromorphologischen Studium gar nichts taugen, und umgekehrt. Der Eisessig ist z. B. ein vorzügliches differenzirendes Fixirungsmittel; im Hervorheben der Kernstructur, namentlich der achromatischen Structurelemente und der fädigen Bestandtheile des ruhenden oder sich theilenden Zellleibes kommt ihm kein anderes Mittel gleich; dagegen ist der Eisessig und der Alkoholeisessig zur allgemeinen Fixirung sehr ungeeignet und der feineren Structur der Nerven- und Muskelfasern ganz besonders schädlich. Der Sublimatalkohol und die wässerigen Sublimatlösungen sind ausgezeichnete Mittel der allgemeinen Fixirung und sind dabei differenzirende Fixirungsmittel für die contractilen und die leitenden Primitivfibrillen: die ersteren treten bei jeder Tinction sehr scharf hervor, die letzteren werden einer specifischen Tinction nach unserer Goldchlorid-Ameisensäuremethode zugänglich. Die Golgi'sche Kalibichromat-Osmiummischung fixirt im Allgemeinen sehr mittelmässig, oft schlecht, macht aber die nervösen Elemente einer

besonderen Schwärzung durch Argentum nitricum fähig. Die wässerige Lösung der reinen Pikrinsäure fixirt im Allgemeinen, sehr gut, hat aber keine besonderen differenzirenden Eigenschaften u. s. w.

Genug jedoch von den Fortschritten der Fixirungstechnik; gehen wir zu denen der Einbettungstechnik über!

§ 13.

Neue Mittel und Methoden der dritten Periode: Einbettungs- und Schneidetechnik.

Auch hier besteht ein wesentlicher Theil des Fortschrittes darin, dass eine ganze Reihe von Einbettungsmethoden der zweiten Periode als dem Zwecke nicht entsprechend aus der Mikrotechnik eliminirt wurde; es sind zwar noch immer auch einige irrationelle hier und da in Gebrauch geblieben, im Allgemeinen beschränkt man sich aber heutzutage auf zwei Einbettungsmethoden, nämlich auf die Paraffin- und auf die Celloidineinbettung, oder auf die Combination der beiden. Dennoch würde eine dritte Methode, die Einbettung in Glycerinleim, welche besonders von Klebs [**1**] 1869 empfohlen wurde (s. p. 83), mehr Beachtung verdienen und eine moderne Bearbeitung gewiss lohnen. Ein Versuch in der letzteren Richtung ist in diesem Werke gemacht (s. Abschnitt IX).

Die von Flemming vorgeschlagene Einbettung in Transparentseife ([**1**] 1873), die Calberla'sche Eiweissemulsionmethode ([**1**] 1876), die Stricker'sche Wachs-Oelmethode ([**2**] 1869), die Kleinenberg'sche Spermaceti-Ricinusölmethode (1874 Foster und Balfour [**1**]) u. s. w. haben blos historische Bedeutung. Dasselbe gilt auch von der Einbettung in Gummischleim, welche eigentlich die älteste Einbettungsmethode ist (s. p. 80); leider wird sie, namentlich von der Schule Ranvier's, combinirt mit Einklemmen zwischen Stücke von Hollundermark noch immer angewandt. Auch das einfache Umgiessen des aus dem Alkohol entnommenen Objectes mit einer Paraffinmasse oder mit Celloidin wurde von den modernen Einbettungsmethoden noch immer nicht vollkommen verdrängt[1].

Was die Paraffineinbettung betrifft, so besteht ihr erster

---

[1]) Blos in Fällen, wo aus speciellen Gründen nicht anders eingebettet werden kann, hat dieses Verfahren einen Sinn; so z. B. nach der Golgi'schen Färbung, für welche noch keine praktische Methode der interstitiellen Einbettung erfunden ist, die die Färbung nicht schädigen würde.

Fortschritt zu Anfang der dritten Periode darin, dass W. Giesbrecht ([1] 1881) das erste gute Vermittlungsmedium zwischen dem Alcohol absolutus und dem Paraffin einführte. Die früher gebrauchten sind, wie bereits erwähnt, entweder ganz schlecht, so z. B. das Kreosot und das Nelkenöl, oder nicht gut genug, da sie nur wenig Paraffin zu lösen im Stande sind, z. B. das Bergamottöl[1]. Jenes Medium ist das Chloroform, welches auch alle anderen, später vorgeschlagenen in jeder Hinsicht weit übertrifft.

Der zweite wesentliche Fortschritt, welcher auch aus dem Giesbrecht'schen Verfahren resultirte, ist der, dass durch ein längeres Verweilen in constanter Wärme über dem Schmelzpunkt des Paraffins dem Vermittlungsmedium die Möglichkeit gegeben wurde, das Object vollkommen zu verlassen, und dem Paraffin, es vollkommen zu durchdringen. Man hat die fundamentale Wichtigkeit dieses Processes endlich erkannt, und diese Erkenntniss hat zuerst zur Einführung von handlichen Wasserbädern für Paraffineinbettung geführt, von welchen die erste allgemeiner eingebürgerte Form in der Andres-Giesbrecht-Mayer'schen Mittheilung (1883) gegeben wurde. Eine bedeutende Vervollkommnung derselben ist das sogenannte Neapler Wasserbad von P. Mayer [4] 1887. Ein weiterer Fortschritt in mehreren Beziehungen sind die etwas grösseren, ebenfalls gut regulirbaren, aufrecht stehenden Thermostaten mit Glasthür, wie sie seit einigen Jahren u. A. auf der zoologischen Station zu Neapel in Gebrauch sind.

Das Giesbrecht'sche Verfahren hat es ferner ermöglicht, das Object einerseits aus dem Alkohol in das Vermittlungsmedium in einer schonenderen Weise, als es vorher der Gebrauch gewesen ist, und andererseits aus dem Vermittlungsmedium in das zur schliesslichen Einbettung dienende Paraffin ganz allmählich zu überführen. Was nun das erstere, das sogenannte Senkverfahren zur Uebertragung des Objectes aus specifisch leichteren Medien (aus Alcohol absolutus) in specifisch schwerere (in Chloroform oder andere Vermittlungsmedien) betrifft, so ist diese Uebertragung keine wesentlich allmählichere, nur viel schonendere, als wenn man das Object aus Alcohol absolutus direct in Chloroform wirft (s. den IX. Abschnitt). Dagegen

---

[1]) Es ist eigenthümlich, dass ein Forscher, M. Heidenhain ([1] 1892), der sich sonst als guter Techniker erwiesen hat, in der neuesten Zeit beim Einbetten in Paraffin wieder auf das Bergamottöl verfallen ist, welches doch ziemlich tief unten in der Reihe der „Aufhellungsmedien“, besser gesagt Vermittlungsmedien zwischen dem Alcohol absolutus und dem Paraffin (Vormedien der Paraffineinbettung) steht. (S. den IX. Abschn.)

ist die GIESBRECHT'sche Uebertragung des Objectes aus Chloroform in Paraffin wirklich die denkbar allmählichste, da sie, nach successiver Zuthat von kleinen Stückchen Paraffin zum Chloroform, auf der Verdunstung des letzteren bei der Schmelztemperatur des betreffenden Paraffins beruht, und das Object in dieser Weise, nach der Theorie wenigstens, endlich in ganz reinen Paraffin zu liegen kommt.

Da aber das Object bei der GIESBRECHT'schen Senkmethode in der That nicht allmählich in Chloroform überführt wird und die Erhaltung der feinsten Structuren durch diesen Umstand doch nicht beeinträchtigt erscheint; da weiter die Nothwendigkeit einer allmählichen Uebertragung aus Chloroform (resp. aus einem anderen Vermittlungsmedium) in Paraffin in neuerer Zeit auch vielfach bestritten worden ist: so kommt es uns fraglich vor, ob die späteren Vorschläge der Mikrographen, diese zweimalige Uebertragung allmählich und nach ihrer Meinung dadurch möglichst schonend zu gestalten, einen rationellen Zweck haben und so eine weitere Vervollkommnung dieser Technik bedeuten. Diese Fragen werden wir aber erst im Capitel über Einbettung in Paraffin erörtern können und glauben daher über die Entwickelung der Einbettung in Paraffin an dieser Stelle, ausser der Erwähnung noch eines Momentes, nichts weiter mittheilen zu müssen. Dieses wichtige Moment ist, dass die Ueberzeugung allerdings ziemlich spät, eigentlich erst in den letzten Jahren, allgemein geworden ist, dass keine Zuthat zum Paraffin (z. B. Wachs, Oel, Vaselin, Fett, Stearinsäure etc.) dasselbe als Einbettungsmasse geeigneter, weder schnittfähiger, noch schonender macht. Gegenwärtig wissen wir, dass hier alles auf die richtige Auswahl der Paraffinsorte, auf eine sorgfältige Reinigung vor dem Einbetten und ein rasches und starkes, die ganze Masse möglichst gleichzeitig betreffendes Abkühlen beim Erstarrenlassen ankommt. Die verschiedenen vorgeschlagenen Methoden des Ausgiessens der das Object enthaltenden Einbettungsmasse müssen also in erster Linie von diesem Gesichtspunkte aus beurtheilt werden.

Zur Einbettung in Celloidin übergehend, müssen wir zunächst der Mittheilung SCHIEFFERDECKER's [**1**] 1881 gedenken, welche den ersten Schritt in der Weiterentwickelung der Methode bedeutet.

Die ursprüngliche Form derselben ist, wie erwähnt, die von MATHIAS DUVAL [**1** und **2**] 1879 zuerst vorgeschlagene Einbettung in feucht zu haltendes (nicht eintrocknendes[1]) Collodium. Schon in dieser

[1]) In lufttrockenem Collodium hatte 1877 schon LATTEUX ([**1**] p. 236) gewisse trockene, weiterem Schrumpfen nicht ausgesetzte Gebilde, wie zum Beispiel Haare eingebettet und geschnitten.

Form konnte die Methode mit den damaligen Paraffineinbettungen in vieler Hinsicht siegreich concurriren. Die Methode der letzteren hat sich aber am Anfang der dritten Periode in einigen Jahren derart vervollkommnet, dass ihr als interstitieller Einbettung gegenüber die Vortheile der DUVAL'schen Methode, welche meist keine interstitielle Einbettung sein konnte, vollkommen illusorisch geworden sind, um von der Schnittfähigkeit des reinen Paraffins, welche die der DUVAL'schen Collodiummasse weit übertraf, gar nicht zu reden. Als Umhüllungsmittel jedoch, welches dazu dient, das mit keiner Einbettungsmasse interstitiell und intracellulär durchtränkte Object beim Schneiden schonender festzuhalten, blieb die Collodiummasse dem Paraffin nach wie vor überlegen.

Während nun in den französischen Laboratorien die Collodiummethode lange Zeit in ihren DUVAL'schen Embryonalstadien geblieben ist, hat sich die Celloidinmethode in den deutschen und ungarischen Laboratorien derart entwickelt, dass sie den Vorrang in mancher Hinsicht sogar vor den modernsten Paraffineinbettungsmethoden unbestreitbar behaupten kann. Diese Position hoffen wir durch die im IX. Abschnitt mitzutheilende Handhabung der Methode, welche sich auch auf mehrere hier zuerst von mir veröffentlichte Kunstgriffe bezieht, noch weiter befestigen zu können.

Die Fortschritte der Methode betreffen: erstens die Wahl und Vorbehandlung des Stoffes, aus welchem die Einbettungsmasse bereitet wird; zweitens die Art und Weise oder vielmehr die Ermöglichung der Durchtränkung des Objectes mit der Masse; drittens das Ausgiessen und die Härtung der Masse, in welcher sich das Object befindet, um ihr die grösst-mögliche Schnittfähigkeit zu verleihen.

In Betreff des ersten Punktes halten wir es, trotz der entgegengesetzten Meinung mancher Mikrographen, für einen entschiedenen Fortschritt, dass SCHIEFFERDECKER [**1**] auf Empfehlung von Prof. MERKEL das Celloidin anstatt des von DUVAL gebrauchten käuflichen Collodiums eingeführt hat. Dann habe ich [**3**] 1889 meine schon lange vorher[1] gemachte Beobachtung mitgetheilt, dass die Einbettungsmasse eine bedeutend grössere Schnittfähigkeit erlangt, wenn man das Celloidin nicht in seinem mehr oder weniger weichen, käsig knorpeligen Zu-

---

[1]) Ich habe bereits 1887 [**1**] mitgetheilt, dass es mir nach meiner damals noch nicht näher beschriebenen Methode ein Leichtes war, Schnitte von einem Quadratcentimeter in vollkommen lückenloser Serie bis zu einer Dünne von 5 μ zu verfertigen, ein Resultat, welches vor mir nicht erreicht wurde und nach anderen Methoden nicht möglich ist.

stand, wie es aus der Fabrik kommt und durch die Verkäufer aufbewahrt wird, zur Verfertigung der Lösungen (vermittelst gleicher Theile von Aethyläther und Alcohol absolutus) benützt, sondern es erst vollkommen, bis zum Verschwinden jeder Spur von Wasser, austrocknen lässt. Ich habe nachgewiesen und als Princip aufgestellt, dass man beim Einbetten in Celloidin vollkommen wasserfreie Lösungen benützen muss [1].

Dieses Princip hat aber eine noch grössere Wichtigkeit für die Durchtränkung des Objectes mit Celloidin. Je vollkommener frei von Wasser die Celloidinlösungen und das Object selbst, um so vollkommener lässt es sich durchtränken. Wasserhaltige Celloidinlösungen, wie sie von Mehreren sogar direct empfohlen wurden, lassen keine interstitielle, geschweige denn eine intracelluläre Einbettung zu, ja nicht einmal in nach aussen direct communicirende Hohlräume dringen sie gut genug ein.

Eine Erleichterung des Eindringens bezweckt übrigens schon Schiefferdecker [1] dadurch, dass er vor der dicken, zum eigentlichen Einbetten dienenden Lösung, welche Duval allein vorschreibt, das Einlegen des Objectes in eine dünnere empfiehlt.

Ich habe jedoch gefunden, dass die vor mir gebrauchten dünneneren Lösungen des Celloidins nicht dünn genug sind, um mit ihnen das Durchtränken bei zarteren Objecten ohne Gefahr der Schrumpfung und bei schwerer permeablen mit Aussicht auf das Eindringen der Lösung anfangen zu können. Andererseits waren die damaligen dickeren Lösungen wieder nicht dick genug, um aus ihnen eine Einbettungsmasse zu erhalten, welche an Schnittfähigkeit an und für sich (ohne eingeschlossenes Object) nicht viel dem Paraffin nachsteht, was ich ganz gut erreichbar gefunden habe. Denn das Eindickenlassen der Lösung über dem Objecte und an der Luft macht, wie am entsprechenden Ort gezeigt werden soll, einerseits die so erhaltene Einbettungsmasse weniger schnittfähig und andererseits die sonst vielleicht noch mögliche Durchtränkung des Objectes mit der dicker werdenden Lösung unmöglich. Demnach habe ich [3] mindestens drei Celloidinlösungen von steigender Concentration vorgeschlagen und ihre Bereitungsweise genauer angegeben. Auch erwies es sich aus dem bereits erwähnten Grunde als zweckmässiger, das Ob-

---

[1]) Die Einführung des Photoxylins durch Krysinsky [1] 1887 halte ich für keinen Fortschritt, da es erstens keine grössere Durchsichtigkeit, als bei richtigem Verfahren Celloidin, gewährt und zweitens kaum je die Schnittfähigkeit des Celloidins erreichen kann.

ject sich in luftdicht verschliessbaren Tuben durchtränken zu lassen und es, zur Erhärtung der Einbettungsmasse erst mit der dicksten Lösung in eine Form (Glasdose oder Papierschächtelchen) zu bringen (gegen Schiefferdecker [2]).

Das Erstarrenlassen der Einbettungsmasse in einer Form ist übrigens schon an und für sich eine bedeutende Verbesserung der Methode, welche von Schiefferdecker [1] 1883 herrührt, jedoch von den meisten Anatomen, z. B. Weigert, [5], besonders aber den pathologischen, nicht geschätzt zu werden scheint. Duval [1] legte das Object aus dem Collodium mit der anhaftenden geringen Collodiumschichte, welche er an der Luft etwas erstarren liess, direct in Alkohol. Schiefferdecker schlug zuerst ein Papierkästchen vor, um das Celloidin mit dem Object hineinzugiessen und so, wie in einer Form, zum Erstarren zu bringen. In dieser Weise wurde es möglich, aus der Einbettungsmasse, wie beim Einbetten in Paraffin, einen beliebig geformten Block, welcher das Object enthält, zurechtzuschneiden [1]. Duval lernte ein ähnliches Verfahren erst 1888 [6] kennen, nachdem es sich in den deutschen Laboratorien überall eingebürgert hat. Die daselbst übliche Methode der Celloidineinbettung, welche im Wesentlichen von ihm selbst stammt, beschrieb Schiefferdecker [2] in Entgegnung auf die Duval-sche Schrift über Collodium-Einbettung [6] zuerst 1888 genauer.

Indem ich gewisse Mängel der damals üblichen Methoden der Einbettung in Celloidin zu vermeiden suchte, gelang es mir auf Grund des oben erwähnten Princips (Fernhalten des Wassers bei der Einbettung) bereits 1886 ein Verfahren festzustellen, dessen Resultate, wie ich es 1887 mitgetheilt habe [1], die früheren weit übertrafen (5 μ Schnittdicke bei einem Quadratcentimeter Schnittfläche in lückenloser Serie). Mein Verfahren selbst, welches von dem Schiefferdecker'schen scheinbar nur wenig verschieden ist, aber doch bedeutend bessere Resultate giebt, habe ich erst 1889 [3] und [4] veröffentlicht. Die seither von verschiedener Seite vorgeschlagenen Aenderungen des Verfahrens sind blos dazu geeignet, seine Leistungsfähigkeit, ohne es dabei auch nur einfacher zu machen, herunterzusetzen, wie es aus den Re-

---

[1]) Freilich ist diese Methode „langweiliger“ (Weigert [5] p. 14) als das einfache Aufkleben des mit Celloidin durchtränkten Objectes auf Kork oder einen Holzklotz, aber es ist vielleicht doch noch langweiliger, wenn so die Masse voll von Luftblasen bleibt, ungleichmässig erhärtet und man anstatt 5 μ dicke Schnitte, die man eventuell brauchen würde, blos 15 μ dicke schneiden kann. (Weigert denkt hier wohl an Rückenmarkschnitte, welche nach seiner Methode gefärbt werden sollen und nicht dünner als 25-20 μ zu sein brauchen.)

sultaten, welche die betreffenden Autoren durch ihre Vorschläge erzielten, deutlich hervorgeht. Die von mir selbst in den letzten Jahren vorgenommenen Neuerungen (s. im IX. Capitel) befähigen mich dagegen, die Celloidinmasse selbst ohne Mühe in Serien von 2-3 μ dicken Schnitten zu zerlegen, und ebenso auch das eingebettete Object, wenn die Beschaffenheit desselben nicht schon an und für sich dem vollkommenen Durchtränken mit Celloidin im Wege steht; lassen ja auch in Paraffin bei weitem nicht alle Objecte dieselbe Feinheit der Schnitte wie das Paraffin selbst zu.

Für die Erhärtung des Celloidins bin ich bei dem von mir seit jeher gebrauchten 70-80procentigen Alkohol — SCHIEFFERDECKER schlug einen 50-70procentigen, Andere einen noch schwächeren vor — verblieben. Weder stärkere noch schwächere Alkohole ergeben so gute Resultate, ebensowenig als andere vorgeschlagene Flüssigkeiten oder das Erhärten an der Luft (FLORMANN [**1**]). Von den ersteren will ich hier blos das Chloroform erwähnen, welches von VIALLANES ([**1**] p. 129) zuerst zu diesem Zwecke 1882 empfohlen wurde. Eine Anzahl von neueren Vorschlägen, welche auf der Härtung des Celloidins in Chloroform basiren, will ich hier schweigend übergehen, da keine von ihnen eine wirkliche Förderung der Celloidintechnik bedeutet. Glycerin habe ich, um den Celloidinblock durchsichtig wie Glas zu machen, und um die Schnittfähigkeit von durch Zutritt von Wasser zu den Lösungen weniger gut gelungenen Einbettungsmassen zu erhöhen — die von gut gelungenen braucht und kann auch nicht erhöht werden — bereits 1889 benutzt, dasselbe that E. MEYER, welcher dieses Verfahren 1890 [**1**] zuerst veröffentlichte.

Das Härten des Celloidins in Chloroform ist blos dann zweckmässig, ja sogar das einzig Richtige, wenn es sich um eine doppelte Einbettung in Celloidin und Paraffin handelt, wenn also der Celloidinblock oder das Object mit seinem Celloidinmantel noch in Paraffin weiter eingebettet werden soll. Und damit kommen wir zu den Vorschlägen, welche für die Combinirung des Celloidins und des Paraffins beim Einbetten gemacht wurden. Der erste Vorschlag dieser Art ist der von KULTSCHITZKY 1887 [**1**]. Sowohl dieser als die später noch von verschiedener Seite gemachten sind nach unserer Ueberzeugung weniger im Stande, die Nachtheile der beiden Methoden zu beseitigen, als vielmehr die Vortheile von beiden ganz beträchtlich zu vermindern. Und dennoch erscheint im Princip wenigstens die richtige Vereinigung der beiden Einbettungsmassen als eine bedeutende Förderung unserer Einbettungstechnik. Wie wir sie am

besten ausführen zu können glauben, werden wir im IX. Abschnitt mittheilen.

Was nun die eigentliche Schneidetechnik zunächst für das in Paraffin eingebettete Object betrifft, so wollen wir hier vor Allem einen kleinen Kunstgriff erwähnen, welcher von der grössten Wichtigkeit ist, sobald es sich um das Schneiden von sehr brüchigen Objecten handelt, oder wenn von Gegenständen, die, nicht ganz die Consistenz des umgebenden Paraffins erhalten, sehr dünne Schnitte, etwa von 1 μ oder weniger, gemacht werden sollen. Dieser Kunstgriff ist das Anbringen eines dünnen Celloidin (oder Collodium- oder Photoxylin-) Häutchens auf die Schnittfläche vor jedem einzelnen Schnitte. Dadurch werden bei richtigem Verfahren, wie es im X. Abschnitt vorgeschlagen ist, Paraffinschnitte in der einfachsten Weise in Celloidinschnitte umgewandelt, welche nach Entfernen vom Paraffin, auch als solche behandelt werden können und, als Paraffinschnitte behandelt, eine viel grössere Schonung zulassen, indem das Häutchen die einzelnen Theile des Schnittes, welche sonst leicht, oft sicher auseinanderfallen würden, fest zusammenhält. Auch hilft es den mechanischen Insult des schneidenden Messers auf das Minimum reduciren, daher die Möglichkeit der dünneren Schnitte.

Das „Celloidinisiren“ der Paraffinschnitte wurde zuerst von Norman N. Mason [1] 1880 vorgeschlagen, eigentlich mit Collodium ausgeführt, und zwar in einer ziemlich unpraktischen Weise. Bedeutend verbessert wurde das Verfahren durch die Vorschläge von E. L. Mark [1] 1886, obwohl auch die letzteren noch einiges Irrationelle enthalten. Und in der That ist die Methode bis heute keineswegs so allgemein in Gebrauch, wie sie es verdienen würde, obwohl nur durch sie es Bütschli 1892 ([1] p. 80) gelingen konnte, Paraffinschnitte herzustellen, die dünner als 1 μ gewesen sind.

Es ist aber von Wichtigkeit, nicht nur sehr dünne Schnitte machen, sondern auch möglichst rasch schneiden zu können, besonders wenn es sich um die Herstellung langer Schnittreihen handelt und es auf die Erhaltung von histologischen Feinheiten weniger ankommt. In dieser Hinsicht ist die Einführung des Schneidens mit dem „Quermesser“ als eine bedeutende Förderung der Paraffintechnik zu bezeichnen. Ursprünglich schnitt man auch das Paraffin mit schräg gestelltem Messer unter Alkoholbenetzung; später, als die Durchtränkung des Objectes vollkommener wurde, konnte man das Benetzen des Messers weglassen. Dass man in gewissen Fällen vortheilhaft mit quer gestelltem Messer und in rascheren Zügen, als vorher üblich gewesen, schneidet, darauf

hat — wer der Erfinder der Methode ist, weiss ich nicht, glaube aber Caldwell selbst — die zoologische Station zu Neapel zuerst Caldwell (s. Andres, Giesbrecht, Mayer p. 430) zu Anfang der achtziger Jahre aufmerksam gemacht und auch gezeigt, dass die in dieser Weise rasch abgehobelten Schnitte eine viel geringere Neigung, sich zusammenzurollen, besitzen, besonders wenn man sie nicht einzeln vom Messer abhebt, sondern erlaubt, dass sich jeder folgende Schnitt mit seinem Vorderrande an den Hinterrand des vorhergehenden anklebt, wodurch sogenannte „Schnittbänder“ entstehen. Man erfuhr, dass diese Bänder ohne Unterbrechung beliebig lang gemacht werden können und man nunmehr nicht genöthigt war, die Schnitte vom Messer einzeln auf den Objectträger zu übertragen, sondern am besten Stücke des Bandes von der gewünschten Länge auf einmal auflegte. Bald aber wurde leider das Bänderschneiden zur allgemeinen Mode unter den Morphologen, und was sich nicht in Bänder schneiden liess, galt für viele als nicht schnittfähig. Oft schneidet man selbst einen in diesem Sinne nicht schnittfähigen Gegenstand nichtsdestoweniger heute noch quer — mit welchem Erfolg, lässt sich denken. Dass in dieser Weise das Quermesser das schräg gestellte Messer beim Schneiden sehr vielfach mit Unrecht verdrängt hat, werden wir noch sehen. Vor nicht langer Zeit begegneten wir sogar einer Aeusserung, nach welcher es der Theorie des Paraffinschnittes allein entspreche, mit querem Messer zu schneiden (M. Heidenhain [**1.**] p. 114), was sicher falsch ist.

Viel haben sich die Mikrographen darüber den Kopf zerbrochen, wie man der Tendenz des Paraffinschnittes sich aufzurollen oder zu falten am besten entgegenwirken könnte. Es wurden ausser manuellen Kunstgriffen auch besondere mechanische Vorrichtungen in Vorschlag gebracht, von welchen der Neapler Schnittstrecker (1883 von Andres-Giesbrebht-Mayer) und der Born’sche [**1**] die handlichsten sind. Aber, abgesehen davon, dass das Aufrollen des Schnittes einem geübten Techniker überhaupt nur in Ausnahmefällen Schwierigkeiten verursacht, fallen die Nachtheile des Aufrollens durch die neueste Methode des Aufklebens der Schnitte auf den Objectträger gleichzeitig auch weg, da diese Methode auch ein vollkommenes Entrollen und Ausglätten des Schnittes, welcher sich nicht glatt vom Messer abheben will, zu bewirken im Stande ist — eine Methode, welche wir für eine der grössten Errungenschaften der modernen Paraffintechnik halten.

Es genügt nämlich noch nicht, glatte und auch sonst tadellose Schnitte erhalten zu haben, es muss auch die gegenseitige Lage der den Schnitt zusammensetzenden Structurbestandtheile und auch die

Reihenfolge der Schnitte selbst in dem Präparat gesichert werden, denn das Paraffin, welches den Schnitt zusammengehalten hat und auch als das einfachste Mittel zum Aufkleben auf den Objectträger dienen könnte, muss entfernt werden: ein Nachtheil des Paraffins dem Celloidin gegenüber, welches nicht entfernt zu werden braucht. Das älteste Verfahren zu diesem Zwecke war das Auflegen des Deckglases auf die auf dem Objectträger durch gelindes Erwärmen angeschmolzenen Schnitte und ein behutsames Durchfliessenlassen des Lösungsmittels des Paraffins unter dem Deckglase, wobei die Schwere des letzteren die Schnitte festhielt; oder aber man legte das Deckglas sofort sammt dem dünnflüssigen Balsam auf und liess das Lösungsmittel des Balsams auch das Paraffin auflösen und aufhellen: auf das Entfernen des Paraffins aus dem Präparat hat man in diesem Falle verzichtet. — Die erste Methode des Aufklebens der Schnitte auf den Objectträger ist die Schellackmethode von Giesbrecht [1 und 2] 1881. Sie gestattete, bei Sicherung der Lage und Aufeinanderfolge der Schnitte auf dem Objectträger, die weiteren Proceduren, falls das Object bereits im Stück gefärbt gewesen ist, ohne vorheriges Auflegen des Deckglases vorzunehmen: das Paraffin konnte gelöst und weggespült und das Lösungsmittel durch Balsam ersetzt werden. Die Giesbrecht'sche Methode musste jedoch sofort entwerthet werden, sobald eine Methode bekannt wurde, welche bei gleicher Einfachheit der Anwendung und gleich sicherem Festliegen der Schnitte auch eine nachträgliche Färbung der letzteren in alkoholischen und wässerigen Medien gestattet. Während sie sich also neben der Schällibaum'schen ([1] 1883) Collodium-Nelkenölmethode, welche ebenso, wie die Schellackmethode auch eine Anzahl anderweitiger Nachtheile besitzt, noch ganz gut aufrecht erhalten konnte[1], verlor sie neben der Mayer'schen [2] Eiweissmethode, welche am Ende desselben Jahres wie die von Schällibaum veröffentlicht wurde, beinahe alle Existenzberechtigung. Dasselbe gilt von sämmtlichen anderen Schnittaufklebemethoden, welche gleichzeitig oder später bekannt gemacht wurden, mit Ausnahme der Methode des Befestigens der Schnitte durch Capillarattraction nach langsamem Verdampfen einer Wasserschichte, welche sich zwischen dem Schnitt und dem Objectträger ausbreitet. Das ist für alle Fälle, wo die Beschaf-

---

[1]) Die Schällibaum'sche Methode giebt, wenn überhaupt, nur bei stets frischer Bereitung der Nelkenöl-Collodiummischung ein sicheres Haften der Schnitte in starkem Alkohol. Auch darf das Nelkenöl nicht durch Stehen am Licht braun geworden sein (s. Rabl [4], p. 171).

fenheit des Objectes das Haften der Schnitte durch einfache Capillarattraction gestattet, die vollkommenste Methode in dieser Art; sie ist bei richtiger Ausführung die sicherste und bequemste, sie gestattet die grösste Ordnung auch bei den allerlängsten Schnittreihen, welche auf einem Objectträger nur angebracht werden können. Neben ihr hat auch die Eiweissmethode, ganz abgesehen von den Fällen, wo, wie erwähnt, wegen der Beschaffenheit des Objectes kein vollkommen sicheres Haften durch Capillarattraction möglich ist, blos für die vorläufige Untersuchung von Probeschnitten, bei Demonstrationen und im mikrotechnischen Practicum, überhaupt wo viel auf das rasche Fertigstellen des Präparates ankommt, einen dann allerdings grossen Werth.

Es ist mir jedoch in der neuesten Zeit gelungen, die Capillarattractionsmethode mit der Eiweissmethode in der Weise (anders als Gaskell [1] und Henneguy [1]) zu combiniren, dass sämmtliche Vortheile der letzteren mit den meisten der ersteren vereinigt werden: die Schnitte glätten sich ebenso vollkommen aus, wie bei der Wassermethode, sie sind ebenso leicht zu ordnen, andererseits haften auch Schnitte, welche wegen ihrer Dicke, infolge gewisser Fixirungen oder wegen der Beschaffenheit des Gewebes durch einfache Capillarattraction nicht vollkommen sicher haften würden, bei jeder Behandlung absolut sicher, und das Haften geht in wenigen Minuten vor sich, so dass die Präparate in derselben kurzen Zeit, wie nach der Mayer'schen Methode untersuchungsfähig werden. Ich nehme anstatt Wasser oder Mayer'schem Eiweiss einfach eine etwa 100fache Verdünnung des letzteren mit destillirtem Wasser. Wie ich dabei verfahre, wird im X. Abschnitt geschildert.

Die erste Anregung zur Capillarattractionsmethode kam von Gaule [1] 1881. Gaule's ursprüngliches Verfahren sicherte jedoch blos das Festliegen von bereits gefärbten Schnitten und leistete, abgesehen von einer grösseren Sauberkeit des fertigen Präparates, nicht mehr als die Schellackmethode[1]. Weiter entwickelt wurde sie erst in den letzten Jahren, besonders dadurch, dass der Alkohol durch destillirtes Wasser ersetzt wurde (Ende 1890 schlug Suchannek [1] noch 50proc. Alkohol vor, dagegen Gulland [1] Ende 1891 schon destillirtes Wasser, ebenso 1892 M. Heidenhain [1]). Ein Verfahren, welches nach

---

[1]) Die Art und Weise jedoch, wie z. B. R. Heidenhain [3] 1888 die Gaule'sche Idee der Schnittfixirung verwerthete, hat bereits eine ziemliche Sicherheit des Haftens der Schnitte auch beim Nachfärben in wässerigen Medien zur Folge gehabt.

diesem Princip die grösste Anzahl von Schnitten, welche nicht zu Bändern zusammenhängend, sondern vom schrägen Messer einzeln abgenommen werden, in ganz idealer Ordnung mit Leichtigkeit und vollkommen sicher auf dem Objectträger befestigt, glauben wir nebst der combinirten Eiweiss-Wassermethode im X. Abschnitt zuerst zu veröffentlichen.

Was die Schnitte von in Celloidin eingebetteten Objecten betrifft, so war Schiefferdecker ([1] 1883) der erste, der gezeigt hat, dass sie nicht blos in Glycerin, wie es Duval angegeben hatte, sondern auch in Balsam montirt werden können. Die erste Serienmethode für Celloidinschnitte ist die von Weigert ([4] 1885). Sie ist jedoch in überflüssiger Weise complicirt und höchstens für Serien von grossen und ziemlich dicken Schnitten geeignet, welche sich wegen ihrer Dicke beim Schneiden glatt oder beinahe ungefaltet auf die Messerfläche schieben, und von welchen ein Objectträger der gewöhnlichen Grösse nur wenige aufnehmen kann. Handelt es sich um dünnere und kleinere Schnitte, welche sich nur ausnahmsweise ganz glatt von der Schneide auf die Messerfläche schieben, meist aber mehr oder weniger falten oder zusammenrollen, und von welchen eine grössere Anzahl (eventuell bis zu 100 und mehr) auf einen Objectträger aneinandergereiht werden sollen, so ist meine Bergamottölmethode ([1] 1887) die erste, welche ohne viel Zeitverlust und mit der nothwendigen Sicherheit ausgeführt werden kann. Sie vereinigt das Ausglätten, das Durchtränken mit dem Vormedium des Einschlusses und das Ordnen des auf der Oelfläche schwebenden Schnittes in einem Act; die Schnitte werden entweder vorerst auf einen Streifen von Pauspapier, oder, was gewöhnlich, weil einfacher, vorzuziehen ist, gleich auf dem Objectträger aneinander gereiht. Das Fixirende ist hier die Adhäsion der Schnitte an das Glas, welche nur dann nicht genügt, wenn bei der Weiterbehandlung der Serie auch wässerige Medien passirt werden sollen. In diesem Falle liess ich das erweichende Celloidin des Schnittes selbst das Ankleben, oder wenigstens die Vereinigung der einzelnen Schnitte zu einer zusammenhängenden Membran besorgen. Diese Idee zum Aufkleben führte Summers [1] kurz vor mir 1887 in der Weise aus, dass er aus einer halbgefüllten Aetherflasche den schweren Aetherdampf auf die Schnitte fliessen liess. Ich habe [2] 1888 ein Bad von Aether-Alkoholdämpfen in einem geschlossenen Tubus vorgeschlagen, welches erstens ein sichereres Haften bewirkt und zweitens die Schnitte in histologischer Hinsicht nicht gefährdet, was man von dem Ueberschütten derselben mit Aetherdämpfen (oder Benetzen mit

Aether-Alkohol — erste Methode von SUMMERS —) an der Luft keineswegs behaupten kann.

Endlich will ich hier noch meine seit einigen Jahren in den hiesigen Universitätsinstituten vielfach gebrauchte Methode des Celloidinschneidens ohne Benetzung des Messers, welche in mancher Hinsicht grosse Vortheile bietet, erwähnen. Deutsch wird sie ebenfalls in diesem Werke zuerst (s. den X. Abschnitt) veröffentlicht.

§ 14.

Neue Mittel und Methoden der dritten Periode: Färbetechnik.

Es bleibt uns noch übrig, die wichtigsten Fortschritte der Färbetechnik in der dritten Periode aufzuzählen.

Man wusste bereits in der zweiten Periode, dass sich diffuse Färbungen dadurch in elective, differenzirende umwandeln lassen, dass man einen Theil des Farbstoffes nachträglich auszieht, wobei diejenigen Structurbestandtheile, welche die grösste Affinität zu dem betreffenden Farbstoff besitzen, ihn am längsten, schliesslich allein behalten. Diese Methode der indirecten Färbung, welche anfangs besonders eine auffälligere, wenn nicht ausschliessliche Tinction des Kernes, namentlich des Chromatins der Kerne anstrebte, und für Theerfarbstoffe zuerst von BÖTTCHER [2 und 3] 1869, dann von E. HERMANN [1] 1875 angewandt wurde, hat für Theerfarbstoffe zu Anfang der dritten Periode hauptsächlich FLEMMING weiter entwickelt. Safranin und Gentianaviolett waren die Farbstoffe, welche durch FLEMMING's Arbeiten in dieser Gruppe von Tinctionsmitteln die grösste Beliebtheit erlangt haben. (Das neuerdings von HOYER empfohlene Thionin soll als Kernfärbungsmittel sogar Safranin und Gentiana weit übertreffen: so behauptet M. HEIDENHAIN [2] p. 430. Ich meinerseits könnte diese Behauptung nicht ohne Weiteres bestätigen.) Der überschüssige Farbstoff wurde anfangs durch einfachen, später durch angesäuerten Alkohol entfernt. Um die Differenzirung des zu Färbenden vollkommener und die zu belassende Färbung haltbarer zu machen, hat man bald auch andere Nachbehandlungen vorgeschlagen: die wichtigste von diesen ist wohl die für Gentianaviolett und Bacterien-Färbung bestimmte GRAM'sche [1] Methode aus 1884, welche der Hauptsache nach in der Nachbehandlung der gefärbten Schnitte mit einer Jodlösung (Jod-Jodkalium in Wasser) besteht. Eine eigenthümliche Art der Differenzirung, welche auf einem anderen Princip beruht, ist die Orange-Methode von FLEMMING, welcher sie 1891 [1] genauer be-

schrieben hat: hier wird die durch Alkohol noch nicht differenzirte Doppelfärbung mit Safranin und Gentiana, also zwei basischen Farbstoffen, durch einen sauren Farbstoff, die Orangelösung, differenzirt, wobei die letztere selbst nicht gleichzeitig zum weiteren Färben dienen soll. Anders ist es mit jener Methode der färberischen Differenzirung, wo gewisse Structurbestandtheile durch vorherige Aufnahme eines Farbstoffes ihre Fähigkeit, einen gewissen zweiten stärker an sich zu binden, verlieren sollen, damit der zweite Farbstoff nur durch jene Elemente festgehalten werde, die ihre Fähigkeit dazu, durch die vorhergehende Färbung nicht verloren haben. Dieses Princip der färberischen Differenzirung glaubte jüngst M. Heidenhain ([2] p. 436 u. f.) durch sein Bordeaux-Eisenhämatoxylin- resp. Anilinblau-Eisenhämatoxylin zum Nachweis der Centrosomen neu in die Mikrotechnik eingeführt zu haben. In der That beruht aber jede rationelle Doppel- oder Mehrfachfärbung durch nacheinander einwirkende Farbstoffe von jeher auf diesem Princip. Wenn man, um das einfachste Beispiel zu wählen, einen Schnitt, welcher vorher mit kernfärbendem Carmin tingirt wurde, nachträglich mit einer Pikrinsäurelösung behandelt, so rechnet man ja auch nur darauf, dass die Kerne (oder wenigstens ihr Chromatin), welche mit stark gebundener rother Farbe saturirt sind, die gelbe Färbung bei dem Weiterbehandeln leicht wieder abgeben, Gewebsbestandtheile dagegen, welche das Roth des Carmins nicht fest oder überhaupt nicht zu binden im Stande sind, der Färbung durch Pikrinsäure nicht nur leichter zugänglich sein, sondern diese auch stärker an sich binden werden.

Ueberhaupt wäre es ja sinnlos, dasselbe Gewebestück oder denselben Schnitt mit zwei oder mehreren verschiedenen Farben zu tingiren, wenn diese zu denselben histologischen Elementen unter allen Umständen dieselben Affinitäten besitzen. In solchen Fällen resultirte entweder eine Mischfarbe oder ein capriciöses Erscheinen der Elemente bald in der einen, bald in der anderen Farbe. In unseren Mehrfachfärbungen wollen wir hingegen constant localisirte Tinctionen (die Wirkung eines jeden Farbstoffes auf gewisse, bestimmte Structurbestandtheile beschränkt) haben, wobei jede Farbe am besten gesondert zur Geltung kommt und womöglich einen auffälligen Kontrast zur anderen bildet. Das ist der Zweck aller Mehrfachfärbungen. Nichtsdestoweniger hat man sich an dieser so einfachen Regel sehr viel versündigt, besonders mit den Theerfarbstoffen. Allmählich wird jedoch auch hier eine vernünftigere Richtung eingeschlagen, und es werden meist nur noch solche Farbstoffe combinirt, welche in Betreff ihrer färberischen Fähig-

keit einander sozusagen entgegengesetzt sind oder deren Fähigkeiten sich ergänzen. So werden, hauptsächlich auf Grund der Arbeiten von Ehrlich, basische Theerfarbstoffe (also par excellence chromatinfärbende) in den Geweben meist mit sauren (also lediglich achromatin-, resp. plasmafärbenden) zusammengebracht, einerlei, ob sie nun gesondert nacheinander, oder wenn es ihre Natur zulässt, gleichzeitig in Mischlösungen zur Wirkung kommen. Das erste und noch immer wichtigste Farbstoffgemisch dieser Art ist jenes von Ehrlich ([8] 1883) stammende, welches, durch Biondi etwas modificirt, aber nicht verbessert, unter dem Namen der Ehrlich-Biondi'schen Farbstofflösung allgemein bekannt ist: hier steht ein basischer Theerfarbstoff, das Methylgrün, einem sauren, dem Rubin (Säurefuchsin) gegenüber; der dritte, ebenfalls saure Farbstoff, Orange, soll bei der Verwendung des Gemisches für feinere Zellstructuren fast nur ein differenzirender Faktor sein. wie beim Orange-Verfahren von Flemming. In Demonstrations- und Uebersichtspräparaten von Geweben ist dagegen auch jene Eigenschaft der Orangefarbe von Werth, dass sie besonders in den Elementen (Zellkörpern von Epithelzellen, Blutzellen oder Blutscheiben und Muskelfasern) zur Geltung kommt, welche das Säurefuchsin weniger rasch aufnehmen (als z. B. die Bindesubstanzen, Primitivfibrillen der Nerven etc.)[1]. Von Ehrlich ursprünglich ([6] 1880 und mit Orange [8] 1883) für Deckglaspräparate von eingetrocknetem Blut (resp. Lymphe etc.) empfohlen, wurde diese Färbung für Schnitte zuerst von Babes [1] 1886 angewandt und nachher 1888 von R. Heidenhain [3] in der Biondi'schen Zusammensetzung des Farbstoffes weiter verwerthet und allgemein beliebt gemacht.

Bei weitem wichtiger jedoch für die Gesammtheit mikrographischer Forschungen als die erwähnten Fortschritte der Färberei mit Theerfarbstoffen ist eine wenigstens für die organischen Farbstoffe und überhaupt für die Tinction sensu strictu (im Gegensatz zur Imprägnirung) neue Richtung der mikroskopischen Färbungen, welche von Weigert (s. Lissauer [1] und Weigert [1]) 1884 eingeschlagen

---

[1]) In dieser Beziehung verhält sich das Orange dem Säurefuchsin gegenüber, wie wir sehen werden, ungefähr so, wie die Pikrinsäure in der van Gieson-schen [1] Pikrinsäure-Säurefuchsinlösung, nur dass die Pikrinsäure in ihren färberischen Neigungen zuverlässiger als Orange ist und auch reiner und fester (besonders an Blutkörperchen und Muskelfasern) haftet, weshalb wir für Uebersichts- und Demonstrationszwecke eine Dreifachfärbung mit Hämateïn-Alaun und Pikrorubin, wie wir die Mischung nennen wollen, anstatt der Ehrlich-Biondi'schen vorschlagen werden.

wurde. Sie besteht darin, dass man die zwei (oder mehr) verschiedenen Ingredientien, durch deren Wirkung aufeinander das färbende Princip erzeugt wird, nacheinander getrennt in das Gewebe durch Imbibition einführt und so den färbenden Körper erst in den Elementen, welche gefärbt werden sollen, entstehen lässt. Sollen nicht alle Elemente, welche sich so färben, gefärbt bleiben, sondern einem Theil derselben der Farbstoff entzogen werden, damit die anderen (gelegentlich nur ein bestimmtes Element) um so deutlicher hervortreten, so folgt dem Processe des Färbens auch hier ein Process der Differenzirung, welche eventuell noch eine dritte Procedur, die dauernde Fixirung der belassenen Färbung begleiten kann. Das erste Verfahren dieser Art, die WEIGERT'sche Nervenmarkfärbung, ist gerade eine Tinction mit darauf folgender Differenzirung.

Von unseren organischen Färbungsmitteln wurde bis jetzt blos das Hämatoxylin in dieser Richtung verwerthet. Auch für das zweite Ingrediens, welches sich in dem Gewebe mit dem Hämatoxylin (oder bereits Hämateïn) verbinden soll, wurde blos eine Gruppe von Stoffen, nämlich Metallsalze, herbeigezogen. Zum Theil erwies es sich hierbei als gleichgültig, ob das Gewebe vom Metall oder vom Hämatoxylin zuerst imbibirt wird; zum Theil ist es dagegen von Wichtigkeit, bald das Hämatoxylin, bald das Metallsalz zuerst einzuführen.

Bei dem ersten WEIGERT'schen Verfahren handelte es sich um eine Chromsalz-Hämatoxylinfärbung (besser Chromsalz-Hämateïntinction, da nicht das Hämatoxylin als solches, sondern ein Oxydationsproduct davon, das Hämateïn, beim Färben in Wirkung tritt), wobei das Differenzirende eine alkalisch gemachte rothe Blutlaugensalzlösung war. Beim zweiten Verfahren WEIGERT's [2] 1885 wird das Gewebe vor dem Hämatoxylin zuerst mit dem härtenden Kali bichromicum und dann noch mit essigsaurem Kupferoxyd durchtränkt.

Bei der grossen Wichtigkeit, welche die WEIGERT'sche Färbung für das Studium des Nervensystems der Wirbelthiere bald erlangte, konnte es auch an weiteren Versuchen nicht fehlen, um sie einfacher oder vollkommener zu machen. Wir halten keine für einen wirklichen Fortschritt. Als solche, welche einen gewissen Ruf haben, könnten die von PAL [1] und N. KULTSCHITZKY erwähnt werden. Bei dem PAL-schen Verfahren 1887 wird anstatt des WEIGERT'schen Borax-Blutlaugensalzes Kali hypermanganicum und nachher, zur vollständigen Entfärbung des Zwischengewebes, Oxalsäure mit Kalium sulfurosum genommen; das KULTSCHITZKY'sche Verfahren schien bei seiner ersten

Veröffentlichung ([2] 1889) vor dem Weigert'schen eine grössere Einfachheit, das Ueberflüssigwerden der nachträglichen Differenzirung voraus zu haben; bei der ausführlichen Mittheilung Kultschitzky's ([3] 1890) stellte es sich jedoch heraus, dass dies nur in Betreff der Vorbehandlung der Fall ist, und dass er auf dieselben Reagentien wie Weigert angewiesen ist. Dagegen kann bei der neuesten Modification von Weigert [3] selbst 1891 die nachträgliche Differenzirung, wenigstens gewöhnlich, in der That wegfallen, indem die Gewebe bereits vor dem Hämatoxylin in der Weise (mit einer Mischung von Seignettesalz und essigsaurem Kupferoxyd) behandelt werden, dass blos das Nervenmark zum Festhalten des entstehenden Farbstoffes fähig bleibt. Solche Präparate stehen jedoch an Haltbarkeit denen, welche nach der zweiten Weigert'schen Methode hergestellt sind, wie in einer Bemerkung neuerdings Weigert selbst zugiebt ([5] p. 21), entschieden nach, weshalb seine neue Methode auch kein wirklicher Fortschritt ist.

Gleichzeitig mit Weigert fing auch R. Heidenhain an, mit Hämatoxylin und Metallsalzen zu färben, jedoch für ganz andere Zwecke und in anderer Weise als ersterer. Bei der von ihm in die Mikrotechnik eingeführten Gruppe von Färbungsmethoden muss das Metallsalz nicht gleichzeitig auch fixirendes Agens sein, sondern es dient meist blos zum Erzeugen des Farbstoffes in dem anderswie (durch Alkohol, Pikrinsäure oder Sublimat) fixirten Gewebe. R. Heidenhain [4] schlug 1885 Stückfärbungen in der Weise auszuführen vor, dass man das aus dem Alkohol entnommene Object zuerst mit einer wässrigen Hämatoxylinlösung und dann mit einer solchen von Kali bichromicum (oder auch Alaun) durchtränke. In der Meinung, dass das Kali bichromicum die Ursache des baldigen Verbleichens seiner so erhaltenen Färbungen war, rieth er 1886 [5], Kali monochromicum (gelbes einfach chromsaures Kali) anstatt bichromicum (rothes doppelt chromsaures Kali) zu verwenden. Darauf habe ich, nachdem ich ([1] 1887) gezeigt, dass an dem eventuellen Verbleichen der Färbung nicht das Kali bichromicum die Schuld ist und dieses besser beibehalten wird, 1888 [2] eine Methode eingeführt, nach welcher die Heidenhain'schen Ingredienzien auch in Alkohol gelöst angewandt werden können, und zwar mit grossen Vortheilen für die Erhaltung und die Schneidbarkeit des Gewebes einerseits und für die Durchsichtigkeit der Tinction und die Feinheit der Differenzirung, deren es hier keiner nachträglichen bedarf, andererseits. Gleichzeitig habe ich auch ähnliche Tinctionen zum Nachfärben von Schnitten vorgeschlagen.

Ebenso sind sämmtliche weiterhin vorgeschlagenen Combinationen

des Hämatoxylins mit Metallsalzen blos an Schnitten mit Vortheil auszuführen. Das Metallsalz ist bei allen späteren Methoden ein Eisensalz. Sie sind: 1886 die von C. Benda ([1]: schwefelsaures Eisenammonium-Hämatoxylin) und Herxheimer ([1]: Hämatoxylin-Eisenchlorid), 1892 die von Bütschli ([1]: essigsaures Eisenoxyd-Hämatoxylin) und M. Heidenhain ([1]: schwefelsaures Eisenammoniumoxyd-Hämatoxylin), und 1893 die neuere Methode von Benda ([2]: Liquor ferri sulfurici oxydati-Hämatoxylin). Die Einwirkung des Eisensalzes geht hier, mit Ausnahme des Herxheimer'schen Verfahrens für Differenzirung der elastischen Fasern, der des Hämatoxylins voraus. Bei den Methoden von Benda und M. Heidenhain ist auch eine nachträgliche Differenzirung nothwendig, bei denen von Herxheimer und Bütschli (sehr starke Tinction zum Sichtbarmachen der Wabenwände protoplasmatischer Structuren) nicht. Sie erfolgt nach Benda's erster Methode (für das Centralnervensystem) durch verdünnte Chromsäure, nach der zweiten und der von Heidenhain (Färbung des Chromatins, besonders aber der Centrosomen) durch die Eisensalzlösung selbst, in welche die Schnitte aus dem Hämatoxylin zurückgebracht werden.

Die im Obigen kurz geschilderte Entwicklung der Hämatoxylintechnik gehört ganz der dritten Periode an; dagegen wurde dasselbe Princip — Entstehenlassen des färbenden Agens in dem Gewebe durch Zusammenbringen getrennt eingeführter Ingredienzien — in der Technik der Imprägnirung durch Metallsalze von Golgi bereits in der zweiten Periode (s. p. 99) zum Studium des Nervensystems der Wirbelthiere mit grossem Erfolg angewandt. Da jedoch die Golgi'schen Methoden erst gegen Mitte der achtziger Jahre allgemeiner bekannt und von grösserem Einfluss auf die Nervenforschung geworden sind, glaubten wir besser zu thun, erst hier ihrer zu gedenken[1]. Von den

[1]) Die medicinische Facultät der Universität Würzburg äusserte sich (im Januar 1894) in Betreff der Verleihung des Franz von Rienecker'schen Preises pro 1891/93 über die Methode und die Entdeckungen von C. Golgi in der folgenden Weise: „Camillo Golgi hat durch seine von ihm ausgedachte Methode der Färbung der Elemente des Nervensystems durch Silbersalze oder Sublimat eine ganz neue Aera in der feinen Anatomie des Nervensystems eröffnet. Ihm gelang es zum ersten Male, die genauen Formen der wesentlichsten Elemente des Gehirns und Rückenmarks, der Nervenzellen und ihrer Ausläufer darzustellen und zwei besondere Arten derselben zu entdecken. Ferner machte er die wichtige Beobachtung, dass alle Nervenfasern der Centralorgane mit vielen Seitenausläufern (Collateralen) versehen sind, durch welche dieselben Nebenwirkungen auszuüben vermögen, und gab

zwei Hauptmethoden GOLGI's stammt die eine, die Chromsilbermethode, wie bereits erwähnt, vom Anfang der siebziger Jahre (C. GOLGI [1], 1873); die andere, die Quecksilbermethode, vom Ende derselben ([5] und [6], 1879). Zur ältesten Form seiner Chromsilbermethode, die er indessen erst 1885 [3] mit aller nothwendigen Genauigkeit beschrieb, und die heute in der Mikrotechnik unter dem Namen der langsamen GOLGI'schen Methode eingebürgert ist[1], gesellte GOLGI [2] 1880 sein sogenanntes rasches Verfahren (Zuthat von Osmiumtetraoxyd zum härtenden Kali bichromicum) und 1885 [3] sein gemischtes Verfahren, welches er zuletzt mit dem meisten Erfolg anwendete. Alle drei sind jedoch blos bei kleineren Gewebsstücken ausführbar; dagegen hat sich die Quecksilbermethode (Härtung in Kali bichromicum, prolongirtes Bad von Sublimat, Reduction des letzteren zu metallischem Quecksilber in den Gewebselementen, in welchen bei der anderen Hauptmethode GOLGI's das Chromsilber entsteht) in den Händen von MONDINO [1] 1885 als zur Imprägnirung von ganzen Gehirnen sogar grösserer Thiere fähig erwiesen.

Während bei den GOLGI'schen Methoden ebenso wie bei den ge-

---

uns genaue Aufschlüsse über die Entstehung der Nervenfasern innerhalb der Centralorgane von den Zellen derselben und über die Endigungen der sensiblen Fasern mit freien Verästelungen. — Diese Entdeckungen C. GOLGI's brachten einen vollständigen Umschwung in unseren Auffassungen von dem feinen Aufbau des Nervensystems hervor und bewirkten auch grossartige und durchgreifende Aenderungen in unseren physiologischen Anschauungen und bedarf es kaum mehr der Erwähnung, dass C. GOLGI auch seine Lehren durch zahlreiche glückliche Specialuntersuchungen über den feinsten Bau des grossen und kleinen Gehirns, des Ammonshorn und des Bulbus olfactorius erhärtete und fest begründete.“ (S. GOLGI [4].) — Wenn wir nun bedenken, dass GOLGI ohne den glücklichen Fund seiner Methoden wahrscheinlich nie jene Entdeckungen — mögen sie alle Thatsachen oder blos scheinbar solche sein, für welche eine weitere Kritik, zum Theil wenigstens, noch nicht überflüssig ist — gemacht hätte, so ersehen wir auch aus dem Obigen die grosse Wichtigkeit der GOLGI'schen Methoden einerseits und die der Mikrotechnik überhaupt andererseits für den Entwicklungsgang der biologischen Wissenschaften.

[1]) Härtung in Kali bichromicum, Verbleiben des Salzes in dem Gewebe, Bad von Argentum nitricum, in welchem ein Theil des Chromsalzes entfernt wird; mit dem im Gewebe gebliebenen Theil jedoch bildet das eindringende Argentum nitricum, namentlich in (?) den Ganglienzellen und deren Fortsätzen, den centralen und peripheren Endausbreitungen der Achsencylinder, den Gliazellen etc., einen braunen Niederschlag von Chromsilber (in den gelungensten Fällen eine braune Tinte), welcher hier das färbende Agens ist.

wöhnlichen Silberimprägnirungen das färbende Agens in dem gefärbten Gewebselemente (oder in den Hohlräumen des Gewebes) meist (oder beinahe immer) in Form von mikroskopisch nachweisbaren Theilchen auftritt, es sich also um eine Imprägnirung handelt, habe ich für das Goldchlorid wiederholt zu zeigen gesucht ([6] 1890, [7] und [8] 1892, [9] 1893), dass bei der richtigen und gelungenen Anwendung desselben die Färbung durch eine im Gewebe entstehende rothe Tinte bewerkstelligt wird, welche die betreffenden Elemente tingirt, ohne sich in ihnen in Form von mikroskopisch nachweisbaren Theilchen einzulagern. Da weder die in der vorhergehenden Periode eingeführten, noch die in der unsrigen vorgeschlagenen Goldmethoden solche zuverlässige Tinctionen, welche gleichzeitig die leitende Substanz in unverkennbarer Weise differenziren würden, gestatten, so habe ich ein Verfahren ausgedacht und vor Kurzem mitgetheilt ([9] 1893), welches bei Schnitten (auch Serien) von in Sublimat (oder Sublimatalkohol) fixirten und in gewisser Weise in Paraffin oder Celloidin eingebetteten Objecten, nach Befestigung der Schnitte auf dem Objectträger eine Tinction durch Goldchlorid-Ameisensäure erlaubt, die sich auch als allgemeine Färbungsmethode mit den Carmin-, Hämateïnthonerde- oder Hämatoxylinchromsalz-Methoden messen kann und bei einer wenn möglich noch grösseren Dauerhaftigkeit ebenso sicher, gleichmässig und allgemein anwendbar ist. Diese Gold-Ameisensäuretinction der Schnitte, also eine Methode des Nachfärbens, liefert mikroskopische Bilder, bei welchen die Färbung sich nicht auf gewisse Gewebselemente beschränkt, z. B. keine blosse Kernfärbung ist, sondern sämmtliche geformte Bestandtheile der Gewebe betrifft, diese jedoch in den verschiedensten Tönen differenzirt; sie übertreffen an Schärfe, Feinheit und Reichhaltigkeit der Zeichnung alles, was ich in dieser Art bis jetzt kenne. Und dabei erscheinen in dem mit Kirschroth und Violett in verschiedener Intensität gemalten mikroskopischen Bilde die leitenden Primitivfibrillen als tief schwarz gefärbte, ungemein scharfe Linien, welche sowohl in den Nerven, als auch in den centralen und peripherischen Endvertheilungen derselben, also z. B. von dem feinen Netzwerke innerhalb centraler Ganglienzellen an bis in solche der Sinneszellen u. s. w., leicht und mit vollkommener Sicherheit zu verfolgen sind. Leider konnte ich die grosse Verschiedenheit der einzelnen Thierformen, namentlich der meist sehr günstigen Süsswasser- und Landthiere und der ungünstigen Seethiere, in Bezug auf diese Differenzirung des leitenden Elementes (dessen specifische Tingirbarkeit in Schwarz) bei meiner Methode bis jetzt

noch nicht beseitigen. In Bezug auf die allgemeine Tingirbarkeit besteht aber, wie erwähnt, kein Unterschied.

Die in diesem Paragraphen bis jetzt erwähnten Färbungen sind alle blos an dem bereits fixirten Objecte, manche erst an fertigen Schnitten, mit Vortheil auszuführen. Es ist eine weitere Errungenschaft unserer Periode, gewisse specifische Färbungen gefunden zu haben, welche nur dann gelingen, wenn das Object weder physikalisch noch chemisch durch äussere Agentien verändert wurde, oder welche wenigstens dann am besten gelingen, wenn das färbende und das fixirende Medium gleichzeitig in Wirkung treten.

Es giebt Fixirungsmittel, welche das Object gleichzeitig auch färben und z. Th. sogar mehr oder weniger differenziren, so das Jod, der Holzessig, die Chromsäure und ihre Salze, das Osmiumtetraoxyd, Palladiumchlorür, Pikrinsäure u. s. w. Von diesen waren der Holzessig und die Jodlösungen, wie wir wissen, schon in der ersten Periode in Gebrauch; die übrigen sind Errungenschaften der zweiten. Auch fehlte es seit der Einführung der eigentlichen Tinctionsmittel nie an Versuchen, den Process der Fixirung (damals Härtung oder Abtödtung) und den der Färbung durch Mischen des Färbemittels mit dem Fixirungsmittel in einem Act zu vereinigen. Der erste gelungene Versuch jedoch, aus dem zur Darstellung specieller Structurbestandtheile ein wirklicher Vortheil erwuchs, fällt auf den Anfang unserer Periode. 1880 veröffentlichte nämlich A. Schneider [1] sein Essigsäure-Carmin, in welchem, wie der Name zeigt, das am raschesten eindringende und wirkende Fixirungsmittel mit einem sehr energischen, dauerhaften, und in dieser Weise angewendet, für das Chromatin sehr electiven Farbstoff vereinigt ist. Und in der That leistete das Schneider'sche Essigsäure-Carmin beim Studium der Beschaffenheit des Zellkernes, namentlich des sich theilenden, vielen Forschern die grössten Dienste. Eine ähnliche, ja sogar vielleicht noch grössere Rolle in der Geschichte unserer cytologischen Kenntnisse spielt eine Combination des Eisessigs oder des Alkohol-Eisessigs mit Methylgrün, welche van Beneden und Neyt [1] 1887 einführten. (Mit einer 2-3procentigen Essigsäure hat bereits Carnoy [2] 1886 das Methylgrün vereinigt und zur Färbung frischer Objecte benutzt.)

Jene andere, noch wichtigere Färbung aber, auf die wir oben gezielt hatten, ist die Methylenblaufärbung der specifischen Bestandtheile des centralen und peripherischen Nervensystems. P. Ehrlich, dem wir ihre Einführung 1886 ([1] und [1a]) verdanken, glaubte, das Eintreten der specifischen Nervenfärbung sei durch die

Lebensthätigkeit der betreffenden Elemente bedingt, und injicirte den Farbstoff dem lebenden Thiere. Nachdem aber Dogiel schon 1887 gezeigt hatte (s. Arnstein [2]), dass auch längere Zeit (z. B. 24 Stunden) nach dem Tode des Versuchsthieres und auch an herausgeschnittenen Gewebstücken die gewünschte Reaction eintritt, wurde Ehrlich's Anschauung dahin modificirt, dass die eintretende Methylenblaufärbung ein Zeichen des Ueberlebens der Elemente sei. Dem gegenüber bewies ich 1892 [8], dass das Leben der Elemente bei der Färbung keine Rolle spielen kann, diese aber dadurch bedingt wird, dass in dem Gewebe alle Substanzen, welche es lebend enthält, physikalisch und chemisch möglichst unverändert erhalten bleiben. Auch habe ich, gegen die frühere allgemeine Annahme, gezeigt, dass das Oxygen (des Gewebes oder der zutretenden Luft) nichts mit dem Gelingen der Reaction zu thun hat, wohl aber die Anwesenheit von Ammoniak (aus dem kohlensauren Ammonium der Luft), durch welches, bei richtiger Zuführung, eine feinere Differenzirung als sonst eintritt.

Die verschiedenen Verfahren, die vorgeschlagen wurden, um die an und für sich rasch wieder verbleichende Methylenblaufärbung der Nerven haltbar zu machen, führen uns zu einem Zweige der mikroskopischen Färbetechnik, welcher sich erst in den letzten Jahren zu entwickeln angefangen hat. Ich meine das an Ort und Stelle vor sich gehende Verwandeln von nicht haltbaren Farbstoffen in haltbare, oder in situ fixirbare Verbindungen oder aber ein Ersetzen von ersteren durch letztere.

Das erste Verfahren, welches uns an Stelle des von den Elementen des Nervensystems rasch wieder an das umgebende Gewebe abgegebenen und dasselbe diffus färbenden Methylenblaus eine einigermaassen haltbare und an dem Nervengewebe haftende Verbindung zu setzen lehrte, ist das von Alexis Smirnow (s. Arnstein [1]) und Pal [2] 1887 und besteht in der Durchtränkung der mit Methylenblau bereits gefärbten und herausgeschnittenen Gewebsstücke mit einer wässerigen Lösung von Jod-Jodkalium (also eine Art Gram'sche Behandlung). Dabei wird der in den Nervenelementen befindliche gelöste blaue Farbstoff in Form eines feinkörnigen graubraunen Pulvers niedergeschlagen, und so die ursprüngliche Tinction in eine Imprägnirung verwandelt, welche zwar den Verlauf der Nerven bis zu gewissen Grenzen wohl verfolgen, aber in ihnen gar keine feinere Differenzirung wahrnehmen lässt. Dagegen ist die etwas später aufgefundene, bis jetzt bei weitem beste Methode der Fixirung von Methylenblaufärbungen durch Ammoniumpikrat derart,

dass sie sie bei richtiger Ausführung, wie ich gezeigt habe [8], als wirkliche Tinctionen, allerdings in etwas veränderter (violetter oder dunkelstahlblauer) Farbe, erhält, welche die feinere Structur der Nerven und der Ganglienzellen nicht nur nicht verdeckt, sondern vielfach in überraschender Weise differenzirt, indem sie ebenfalls das leitende Element am meisten, oft ausschliesslich, heraushebt. Letzteres ist namentlich dann der Fall, wenn der fixirenden Ammoniumpikratlösung freies Ammoniak zugegeben wird, welches hier als differenzirendes Agens wirkt. Anfangs wurde, ebenfalls von Smirnow, das Hoyer'sche Pikrocarmin zu dieser Fixirung benützt; bald fand aber Dogiel, bereits 1887 (s. Arnstein [2]), dass in dem Pikrocarmin blos das Ammoniumpikrat das Fixirende ist, weshalb es vortheilhafter für sich allein angewendet wird. Ich endlich habe 1892 [8] wahrscheinlich gemacht, dass die schönen Färbungen, welche Dogiel erhielt, dadurch bedingt waren, dass das von ihm gebrauchte Ammoniumpikrat unbeabsichtigt freies Ammoniak enthielt.

Gewisse Schwierigkeiten des Aufbewahrens der Golgi'schen Chromsilberpräparate haben zu weiteren Versuchen auf diesem neuen Gebiete der Färbetechnik Veranlassung gegeben. Man trachtete unter anderem durch ein Verfahren, dessen Princip der photographischen Technik entlehnt ist, das Silber durch Gold zu ersetzen. Nach einem 1890 mitgetheilten Verfahren von Obregia [1] scheint dieses zu gelingen, und zwar einfach dadurch, dass die Schnitte, welche eine gute Golgi-sche Chromsilberfärbung aufweisen, in ein alkoholisches Goldbad, das vorher durchlichtet gewesen ist, gelegt werden und dann zur Reduction in eine wässerige Lösung von unterschwefligsaurem Natron kommen. Dasselbe Verfahren kann nach Obregia auch an Golgi'schen Quecksilber-Färbungen mit Erfolg vorgenommen werden. Dieses that mit seinen Sublimatpräparaten neuerdings, 1891, auch Golgi [8], weil ihn der metallische Glanz des Quecksilberniederschlages bei Untersuchungen mit starken Vergrösserungen störte. Er legte seine Schnitte in ein Goldbad, wie es von den Photographen zum Tönen der Bilder benutzt wird, und erreichte dadurch eine wirkliche Schwarzfärbung dort, wo diese wegen der Undurchsichtigkeit des Quecksilberniederschlages bei durchfallendem Licht blos so aussah.

Endlich wollen wir noch die Verbesserungen, welche unsere Periode in der Herstellung oder der Zusammensetzung der am allgemeinsten gebrauchten mikrotechnischen Tinten, der Carmin- und Hämatoxylin- (besser Hämateïn-) Tinten hervorgebracht hat, erwähnen.

Die neueren Hämatoxylinlösungen sind dem älteren Böhmer'schen Hämatoxylin an Tinctionsfähigkeit, weder was die Energie, noch was die Differenzirung der Färbung betrifft, keineswegs überlegen; die Ursache, weshalb sie jenem vorzuziehen sind, ist ihre grössere Haltbarkeit. Diese verdanken sie aber blos ihrem Gehalt an Glycerin und Alkohol oder auch Eisessig. Die beiden beliebtesten sind das sogenannte Delafield'sche und das Ehrlich'sche Hämatoxylin. Das erstere war bereits zu Anfang der achtziger Jahre in New-York in Professor Delafield's Laboratorium in Gebrauch; die genaue Formel wurde jedoch erst 1885 von Prudden [1] veröffentlicht. Zum Delafield'schen Hämatoxylin nimmt man anstatt des gewöhnlichen Kalialaun den in Wasser leichter löslichen Ammoniumalaun, was sonst kein wesentlicher Unterschied ist. Die Ehrlich'sche ([7] 1886) Vorschrift unterscheidet sich von der Delafield'schen, ausser der Verwendung des gewöhnlichen Alauns, blos durch die grössere Menge von Alkohol und Glycerin und die Zuthat von beinahe 3% Eisessig.

Da sowohl nach der Böhmer'schen als auch nach der Kleinenberg'schen Vorschrift die alkoholische Lösung der Hämatoxylinkrystalle vorräthig gehalten werden soll, so war dadurch, falls die Lösung schon einige Monate gestanden hat und dunkelrothbraun geworden ist, die Möglichkeit gegeben, nach dem Zusammengiessen mit den übrigen Bestandtheilen eine Farblösung zu bekommen, welche ihre vollkommene Tinctionskraft sofort erhält. Hier geschieht nämlich das, was man das „Reifen" der Hämatoxylinlösung genannt hat, bereits in der alkoholischen Vorrathslösung der Hämatoxylinkrystalle: das Hämatoxylin wird allmählich zu Hämateïn oxydirt. Nach sämmtlichen späteren Vorschriften hingegen sollen die Hämatoxylinkrystalle sofort mit allen übrigen Bestandtheilen zusammengebracht werden; und auch das Böhmer'sche und Kleinenberg'sche Hämatoxylin stellte man sich mit frischen Lösungen der Hämatoxylinkrystalle her, damit diese Tinctur ja nicht verderbe, etwa nachdunkele. Deshalb besitzt die so gewonnene Mischung anfangs noch so gut wie gar keine Tinctionskraft; die fertige Mischung muss noch längere Zeit reifen. Anstatt sich nun die Hämatoxylinkrystalle, wie es ja das Einfachste gewesen wäre, schon längere Zeit vorher in Alkohol zu lösen und sich so eine reife Basis für den zu bereitenden Farbstoff vorräthig zu halten (wie ich es seit längerer Zeit thue: s. meine verschiedenen aus Hämatoxylin bereiteten Hämateïnlösungen im XII. Abschn.), hat man die verschiedensten Methoden versucht, die Reifung der sonst fertigen Hämatoxylinthonerdesalzlösungen künstlich zu be-

schleunigen. Diese Bestrebungen hat 1891 Paul Mayer [5] einfach dadurch vollkommen überflüssig gemacht, dass er auf das Hämateïn, als auf den eigentlichen Bestandtheil des färbenden Princips in sämmtlichen verschiedenen Thonerdesalz-Hämatoxylinlösungen der Mikrotechnik hinwies und für die Zukunft das Hämateïn (oder Hämateïn-Ammoniak) anstatt des Hämatoxylins zur Bereitung der betreffenden Farblösungen vorschlug. Auch hat er uns die genaue Vorschrift dazu gegeben, wie die zwei wichtigsten älteren Hämatoxyline, nämlich das Böhmer'sche und Kleinenberg'sche, von nun an durch Hämateïnlösungen ersetzt werden sollen: dem ersteren entspricht, als wässriges Medium, Mayer's Hämalaun, dem letzteren, als alkoholisches Medium, Mayer's Hämacalcium.

In Betreff des Carmins kann unsere Periode, bis auf die letzte Zeit, keine Vorschriften aufweisen, welche denen der zweiten in irgend einer Weise, höchstens für ganz specielle Zwecke, überlegen wären, obwohl die verschiedenen Vorschläge an die Dutzende gehen. Gewissermaassen als ein Fortschritt könnte aufgezeichnet werden, dass die überflüssig gewordenen ältesten Carminformen beinahe gänzlich verlassen wurden, so das Gerlach'sche Carmin-Ammoniak und besonders das Beale'sche Carmin. 1892 hat Paul Mayer [6] ebenso wie im vorhergehenden Jahre das Hämatoxylin, auch die Carminfärbungen einer genaueren Analyse unterzogen. Er zeigte, dass in sämmtlichen in der Mikrotechnik verwertheten Carmin- oder Cochenille-Lösungen die Verbindung der Carminsäure mit einem Thonerdesalze das eigentlich Wesentliche, das Färbende gewesen ist. Demnach räth er zu ihrer rationellen Herstellung von nun an die Carminsäure in Verbindung mit Alaun oder Chloraluminium zu benutzen. Die wichtigsten zwei solche Farblösungen, welche er vorschlägt, sind, als wässeriges Medium, das Carmalaun und, als alkoholisches Medium, das Paracarmin.

Und damit glaube ich die wichtigsten Momente in der Entwickelung der Färbetechnik in der dritten Periode aufgezählt zu haben und so auch diesen geschichtlichen Ueberblick beendigen zu können.

Dritter Abschnitt.

Allgemeine Rathschläge.

(Besonders für den Anfänger.)

Fünftes Capitel.

Mikrotechnische Bearbeitung des Untersuchungsmaterials.

§ 15.

Wahl der Methoden. Behandlung eines spärlichen Materials.

Mit einem beliebigen Untersuchungsobject vor sich, dessen mikroskopische Beschaffenheit er aus eigener Anschauung kennen lernen will, blättert der Anfänger — einerlei, ob er bereits festgestellte, von anderen gut beschriebene Verhältnisse verfolgt, oder, als angehender Forscher, noch Unbekanntes für die Wissenschaft aufschliessen möchte — meist vergebens in den mikrotechnischen Lehr- und Handbüchern um zu erfahren, nach welchen Methoden er sein Object der mikroskopischen Untersuchung am besten zugänglich machen könnte. Nur wenn das Untersuchungsobject ein Organ oder ein Gewebe eines Wirbelthieres ist, findet er für die mikrotechnische Behandlung davon genauere Anweisungen. (So bei Ranvier [2b], Schiefferdecker-Kossel [1], Stirling [1], Stöhr [1], Böhm-Oppel [1] etc.: s. in der Einleitung auf p. 7-8). Handelt es sich um ein wirbelloses Thier[1], und muss er deshalb zu den Werken greifen, welche auch Wirbellose oder besonders diese bei ihren praktischen Anweisungen berücksichtigen[2] — es giebt deren nur sehr wenige, wir wollen

[1]) Ja sogar blos um den Embryo eines Wirbelthieres, für dessen Behandlung bei Böhm und Oppel [1] allerdings schon eine gewisse Anzahl von geschickt zusammengestellten Vorschriften zu finden ist (Capitel 15 und dessen Anhang).

[2]) Es giebt gewisse traditionelle Excurse auf dem Gebiete der „niederen" (also nicht zu berücksichtigenden) Thiere, welche zu machen auch die menschlichen Histologien nicht unter ihrer Würde halten. So wird z. B. mitgetheilt, wie man sich, um die Bewegungen der amöboiden Zellen oder der Cilien zu

hier LEE [3] und WHITMAN [2] wieder erwähnen — so bieten ihm diese in Bezug auf die einzelnen Thierformen oder Thiergruppen nur äusserst dürftige oder gar keine Anhaltspunkte: sie citiren, wie bereits in der Einleitung dieses Buches erwähnt, meist blos das Verfahren von ein oder zwei Autoren, welche womöglich noch auf die Lösung von ganz speciellen Problemen gerichtet sind und womit man nichts weiter anfangen kann[1]. Allerdings ist es innerhalb des Rahmens eines kurzgefassten Werkes unmöglich, genaue Vorschriften für die mikrotechnische Behandlung auch nur der grösseren Thiergruppen zu geben, zumal da diese selbst keine einheitliche Behandlung zulassen, sondern oft sogar die einzelnen Species verschiedene Methoden erfordern. Aber auch die allgemeinen Rathschläge, welche als Einleitung

---

untersuchen, Präparate von der Teichmuschel, oder um die quergestreiften Muskelfasern zu studiren, solche von einem Wasserkäfer, von der Fliege oder vom Flusskrebs verfertigen soll etc. Natürlich können diese technischen Anweisungen für den hier in der Rede stehenden Fall gar nicht in Betracht kommen.

[1]) Bei WHITMAN [2] ist z. B. die längst veraltete Methode von ANDRES (aus den ersten achtziger Jahren), die Zellelemente der Actinien zu isoliren, erstens im Capitel „Preservative Fluids“ auf p. 28 und dann im Capitel „Histological Methods“ auf p. 205, also zweimal mit denselben Worten ganz ausführlich mitgetheilt; von einem der allerbesten und am allgemeinsten anwendbaren Macerationsmittel, der 20-30procentigen Salpetersäure, geschieht dagegen im Buche keine Erwähnung. Allerdings muss man, um WHITMAN nicht Unrecht zu thun, in Betracht ziehen, dass sein Buch 1885 geschrieben wurde, und die Auflage, welche das Datum 1891 trägt, einfach eine Copie von der von 1885 ist. Als beste Methode, welche bis 1885 bekannt war, Eier von Amphibien zu präpariren und zu schneiden, wird die von O. HERTWIG 1882 (die Entwickelung des mittleren Keimblattes der Wirbelthiere (Das mittlere Keimblatt der Amphibien) in: Jena. Zeit. Naturw. Bd. XVI. (1882/3) p. 247-328. Methode auf p. 249-252) angegeben und ausführlich geschildert. Nun ist und war zum Theil bereits 1885 das Verfahren von O. HERTWIG, sowohl was die Methode des Entfernens der Gallerthülle der Eier (5-10 Minuten in beinahe siedendem Wasser, dann Anschneiden der Hülle mit der Scheere), als auch die Fixirung (0.5procentige Chromsäure oder Alkohol von 70 % an), Färbung und Einbettung (in Eiemulsion nach CALBERLA) betrifft, vollkommen entwerthet. Für dieselben Zwecke sind nämlich seither viel bessere Methoden empfohlen worden, z. B. die Entfernung der Gallerte durch Eau de Javelle nach BLOCHMANN ([2] 1889), Fixirung durch Chromessigsäure oder Chromosmiumessigsäure, Durchfärben in Boraxcarmin, Einbetten in Paraffin (O. SCHULTZE [1] 1887 p. 185-187), so dass in seiner neueren Arbeit über die Entwickelung der Amphibien sogar O. HERTWIG selbst seine früheren Methoden vollkommen aufgegeben und die erwähnten neueren angewandt hat (Urmund und Spina bifida. in Arch. Mikr. Anat. Bd. XXXIX. 1892 p. 353-503. Methode auf p. 355). Die gegenwärtig besten sind übrigens auch diese nicht.

in die zoologisch-embryologische Mikrotechnik gegeben werden, sind vielfach derart, dass sie den Leser, Studirenden oder angehenden Forscher, auf Irrwege, namentlich zu einer technischen Einseitigkeit führen können.

Wenn das Zerlegen des in toto auf die Zellkerne hin gefärbten Objectes in Schnittreihen und Einschluss derselben in Balsam als die General- oder Normalmethode der modernen mikroskopischen Anatomie hingestellt wird, mit welcher die Arbeit sehr oft beendet ist, und nur besondere Umstände auch andere Methoden nothwendig machen, so könnte daraus gefolgert werden, dass diese Methode allein genüge, um die mikroskopische Anatomie eines beliebigen Objectes kennen zu lernen[1]. Dagegen steht die Sache in der That so, dass man sich zwar im Allgemeinen, obwohl keineswegs immer, am raschesten, leichtesten und in vielen Fällen am sichersten durch jene Normalmethode einen Begriff von der mikroskopischen Anordnung der Theile eines Organismus (Organs oder Gewebsstückes) verschaffen kann, dass es aber keine einzige Detailfrage der mikroskopischen Anatomie giebt, welche durch sie in erschöpfender Weise beantwortet werden könnte, wohl aber sehr viele, auf welche sie überhaupt keine Antwort zu geben im Stande ist. Die erschöpfende und sichere Kenntniss der mikroskopischen Beschaffenheit eines jeden Gegenstandes er-

---

[1]) Bei Lee ([3] p. 1) lesen wir Folgendes: „The methods of modern microscopic anatomy may be roughly classed as General and Special. There is a General or Normal method, known as the method of sections, which consists in carefully fixing the structures to be examined, staining them with a nuclear stain, dehydrating with alcohol, and mounting series of sections of the structures in balsam. It is by this method that the work is blocked out and very often finished.“ Dabei sind aber in dem Buche von Lee die Specialmethoden (z. B. die Untersuchung in „indifferenten“ Medien, die Macerirung der Gewebe, die Injectionsmethoden, die Imprägnirungen etc.) grösstentheils mit derselben unparteiischen Ausführlichkeit, wie die Normalmethode behandelt.

Whitman ([2] p. 3) unterscheidet von einem allgemeinen Standpunkt zwei Untersuchungsweisen eines Thieres, nämlich die Flächen-Untersuchung (surface-observation) und die Schnitt-Untersuchung (section-observation); beide stellt er in der Einleitung seines Buches (p. 10) als gleich wichtig und unvermeidlich hin. Maceriren, Imprägniren, Behandeln des lebenden Gewebes u. s. w. sind wohl Methoden der Flächen-Untersuchung, und doch behandelt er jene und überhaupt alles, was nicht zur Schnittmethode gehört, in ganz stiefmütterlicher, man könnte sagen, geringschätzender Weise, so dass der Anfänger blos im Erlernen der Schnittmethode genügende Anhaltspunkte bei ihm fand. Bei dem gegenwärtigen Stand der Schnittmethode reichen jedoch seine Vorschriften auch für diese nicht hin.

fordert, dass man sich ihm von den verschiedensten Richtungen, mit den verschiedensten Methoden zu nähern suche; auch dann ist sie heute noch oft nicht zu erreichen, weil uns dafür die richtigen, speciellen Methoden noch immer fehlen. Die Gründlichkeit der Arbeit des Mikrographen ist durch die Vielseitigkeit seiner Mikrotechnik bedingt, und die Zuverlässigkeit seiner Resultate steht in geradem Verhältniss zur Zahl und Verschiedenartigkeit der von ihm angewandten Methoden.

Und will sich oder muss sich jemand dennoch auf die Normalmethode beschränken, so möge er wenigstens die Zurechtweisung des Apelles, Sutor ne ultra crepidam! nicht vergessen. Er soll unsere Kenntnisse von Verhältnissen nicht bereichern wollen, von welchen er sich selbst keine verschaffen kann. Gewiss ist die Methode des Zerlegens in lückenlose Schnittreihen (aber nicht die „Normalmethode" mit Kernfärbung im Stück, sondern mit Nachfärbung der auf dem Objectträger befestigten Schnitte) derart, dass sie uns mehr von einem gegebenen Gegenstand erfahren lässt, als, für sich einzeln angewandt, alle anderen Methoden. Es kann vorkommen, dass die Spärlichkeit des Materials die Bearbeitung eines Gegenstandes nur nach einer Methode und nicht nach mehreren erlaubt; dann ist, falls sich das Material dazu eignet, das Zerlegen in eine lückenlose Reihe von Schnitten das rationellste Verfahren, ausgenommen natürlich, wenn sich der Forscher an dem ihm sonst schon aus eigener Anschauung wohl bekannten Object blos für einen besonderen Punkt interessirt, welcher eine andere Methodik erfordert.

Bekommt z. B. jemand ein, zwei oder drei Exemplare eines seltenen Thieres (einer Larve oder eines Embryonalstadiums), welche weder zu klein (selbst mikroskopisch) noch zu gross oder in anderer Hinsicht ungeeignet sind (s. p. 154), um in der gleich zu skizzirenden Weise in toto behandelt zu werden, so führe er an ihnen zunächst nur solche Beobachtungen, diese aber alle aus, welche die Hauptverwendung seines Materials, in diesem Falle das Zerlegen in tadellose Schnittreihen, nicht beeinträchtigen. Hat er blos ein Exemplar, so sei die Schnittrichtung vertical auf die Hauptachse: er soll also aus einem bilateral symmetrischen Körper eine Reihe von transversalen, aus einem radiären eine solche von äquatorialen Schnitten verfertigen. Sind zwei Exemplare da, so soll man das zweite, ist es ein bilateral-symmetrischer Körper, in sagittale, ist es ein radiärer, in meridiale (mit der Meridianebene über einen Hauptradius parallele) Schnitte zerlegen; ist es dagegen ein punktsymmetrisches, asymmetrisches oder regellos geformtes Object, so genügt es,

ein Exemplar für Schnitte von beliebiger Richtung zu verwenden; das zweite kann man schon anders behandeln. Stehen drei Exemplare zur Verfügung, so soll man das dritte, falls es ein bilateral-symmetrischer Körper ist, ja noch für eine Schnittreihe, und zwar eine frontale benutzen; von radiären Körpern kann man das dritte Exemplar schon in anderer Weise behandeln. Doch ist es besser, ein spärliches Material auch von regellosen und radiären Körpern ganz für Schnittreihen zu verarbeiten, aber nach verschiedener Fixirung und verschieden eingebettet (also z. B. neben dem Paraffin auch in Celloidin)[1].

Findet man nicht von vornherein Eigenschaften an seinem Material, welche direct gegen die vorgeschlagene Behandlung sprechen, so läuft man bei einem in mikrotechnischer Hinsicht unbekannten Gegenstand nach unserer Erfahrung am wenigsten Gefahr, misslungene Präparate zu bekommen und sein Material nicht auszunützen, wenn man in der folgenden Weise verfährt[2].

Theoretisch mag es überflüssig erscheinen, in der Praxis ist es das dagegen keineswegs, den Anfänger zunächst darauf aufmerksam zu machen, dass er seinen Gegenstand, so weit es dessen körperliche, namentlich histologische Integrität erlaubt, schon im lebenden Zustande genau studiren muss. Erst soll er alles, was er nur mit unbewaffnetem Auge zu sehen im Stande ist, Grösse, Form, Farbe, Dimensionen der einzelnen unterscheidbaren Theile, Beschaffenheit der Körperoberfläche, etwa durchscheinende Einzelheiten des inneren Baues, die Art und Weise der Lebensäusserungen u. s. w. notiren. Ist das Object durchscheinend oder durchsichtig, so muss er es jetzt schon sowohl bei durchfallendem, als auch bei auffallendem Licht (auf weisser und auf schwarzer Unterlage) betrachten. Sodann schreite er zur Untersuchung mit Lupenvergrösserungen, und zwar ebenfalls bei verschiedener Beleuchtung. Kann er in dieser Weise nichts weiter sehen, und erlaubt es die Grösse des Objectes, so ziehe er schwächere Vergrösserungen des Mikroskopes herbei, sorge jedoch für die Er-

[1]) Die hier gebrauchte Bezeichnung der Schnittrichtungen entspricht den von F. E. Schulze der dritten Jahresversammlung der deutschen zoologischen Gesellschaft vorgelegten Regeln. (S. Verh. D. Z. Ges. 3. Vers. p. 6-11.)

[2]) Die Einzelheiten des Verfahrens (so u. A. die Bereitung und Anwendung der Reagentien etc.) bei den hier zur allgemeinen Orientirung vorgeschlagenen Behandlungsweisen werden in den betreffenden späteren Capiteln dieses Buches genau geschildert. Der Leser kann die ihn interessirenden Stellen des Textes leicht finden, wenn er die in der folgenden Skizze gesperrt gedruckten Schlagworte im Sachregister aufsucht.

haltung der Lebensbedingungen des Thieres (des Eies, des Embryos oder der Larve) während der Untersuchung. Lebt es im Wasser, so benutze er mit dem Horizontalmikroskop das Objecttischaquarium, oder beobachte mit dem Verticalmikroskop in einer Glaszelle, im hängenden Tropfen (in der feuchten Kammer) oder, je nach dem, unter dem gestützten Deckgläschen. Auch hier suche sich der Beobachter durch entsprechende Einstellungen der Linsen und Wechseln der Lage des Objectes zuerst Oberflächenbilder vom ganzen Gegenstand zu verschaffen. Sind ihm dabei die Bewegungen desselben hinderlich, so kann er in dem hier gesetzten Falle des äusserst spärlichen Materials blos sehr vorsichtig und mit den mildesten Massregeln dagegen wirken. Führen diese nicht zum Ziel, so muss er auf die Immobilisirung des Objectes behufs Beobachtung während des Lebens verzichten; oft erreicht er aber auch mit ihnen das Gewünschte. Ist das Medium, worin sich das Untersuchungsobject befindet, Wasser, so kann man sehr allmählich etwas Cocaïn zuführen; ist es Luft, so leite man Chloroform- oder Aetherdämpfe oder Tabaksrauch hinein. In beiden Fällen kann man den Verbrauch des Oxygens im geschlossenen Raum durch das Untersuchungsobject zu dessen Betäubung verwerthen. Die Betäubung darf jedoch die Grenze, von wo der Organismus noch zu voller Lebensthätigkeit zurückgebracht werden kann, nie überschreiten. An Stelle der Betäubung genügt oft die Beengung des Raumes; bis zum mechanischen Druck darf sich diese aber nur dann steigern, wenn der Körper so resistent ist, dass er dadurch seine Form nicht verändert, oder so elastisch, dass er sie sofort wieder zurückbekommt. In diesem bewegungslosen Zustande soll man sich von durchsichtigen Körpern durch entsprechende Einstellung des Mikroskopes auch verschiedene optische Durchschnitte verschaffen. An solchen müssen die Dimensionen des lebenden Objectes und seiner Theile nochmals, genauer, mit dem Mikrometer bestimmt werden. Bei der Beobachtung der optischen Durchschnitte soll man, nachdem man sich alles, was mit schwächeren Vergrösserungen zu sehen ist, notirt hat, gradatim bis zu den stärksten gehen, welche bei den gegebenen Raumverhältnissen nur brauchbar sind, und wieder möglichst viel (so u. A. die Grössen der wichtigsten Zellformen und ihrer Kerne) messen und zeichnen. Bei schwächeren Vergrösserungen benutze man auffallendes und durchfallendes, bei mittleren und stärkeren auch polarisirtes Licht. Letzteres findet bis jetzt bei allgemeinen Arbeiten noch viel zu wenig

Verwendung, obwohl es das wichtigste (streng genommen einzige) und dabei doch ein sehr einfaches Mittel der *histologischen Differenzirung des lebenden Gewebes* ist.

Wenn Alles, was das lebende Object dem Beobachter bieten kann, nach Möglichkeit erschöpft ist, lege er es zum *Fixiren* in *Sublimat-Alkohol*. Darin sterben die meisten Thiere sehr rasch und viele in ziemlich ausgestrecktem Zustande. Ist es jedoch sehr beweglich, und zwar auf Grund stark entwickelter Körpermusculatur, so thut man doch besser, es vorher zu betäuben. *Die Betäubung vor dem Fixiren* kann eine viel stärkere sein, als *die Betäubung zur bequemeren Beobachtung während des Lebens*, nur wirke das betäubende Mittel nicht gleichzeitig in einer uncontrollirbaren Weise als fixirendes oder die Gewebe anderswie angreifendes Agens. Deshalb ist auch das *Uebergiessen* des nicht betäubten Thieres *mit der siedenden Fixirungsflüssigkeit*, damit der Tod wegen seiner Plötzlichkeit ohne active Contractionen und wegen der rascheren Coagulirung der Eiweisssubstanzen des Körpers auch ohne passive Verzerrungen erfolge, nur dann anzurathen, wenn das Untersuchungsobject in der kalten Fixirungsflüssigkeit erfahrungsgemäss nicht ohne zu grosse Veränderungen der Körperform abgetödtet werden kann. Die Hitze ist nämlich selbst ein fixirendes Princip, welches aber oft auf Kosten der vollkommenen histologischen Erhaltung mancher Structurelemente wirkt.

Ist der Körper nicht ziemlich isodiametrisch, so muss auch seiner nachträglichen *Krümmung in der Fixirungsflüssigkeit* durch *mechanische Massregeln* entgegengewirkt werden, aber natürlich auch nicht auf Kosten der natürlichen Form und Integrität. Eine eventuelle *Schrumpfung* im Sublimat-Alkohol, welche wohl sehr selten vorkommen wird, ist natürlich eine Veranlassung dazu, bei den anderen Exemplaren eine andere Fixirungsflüssigkeit zu versuchen. Es ist also doch rathsam, nicht alle Exemplare auf einmal zu fixiren, falls sie am Leben zu erhalten sind. Nur wenn man nach 3-4 Stunden sieht, dass das erste Exemplar in der Fixirungsflüssigkeit keine namhaften äusseren Veränderungen erlitten hat, behandle man die übrigen in derselben Weise; sonst versuche man mit dem zweiten Exemplar die *kalt gesättigte Pikrinsäurelösung*. Erweist sich bis nach 3-4 Stunden auch diese als ungeeignet, so lege man das dritte Exemplar in *Sublimat-Eisessig*; sie verlangen aber in beiden Fällen eine andere Weiterbehandlung, als nach Fixirung in Sublimat-Alkohol. Nur ganz ausnahmsweise wird keines der erwähnten

Fixirungsmittel ohne namhafte Formveränderungen fixiren. Ist ein richtiges Fixiren wegen der zu grossen Impermeabilität des Objectes (dickere Chitinhüllen etc.) nicht bei kalter Anwendung der drei genannten Mittel zu hoffen, so muss man sie siedend nehmen, damit die Hitze die Fixirung dort, wo die Flüssigkeiten selbst nicht rasch genug eindringen, ergänze.

Wir setzen hier den weitaus häufigsten Fall, dass der Sublimat-Alkohol ein geeignetes Fixirungsmittel für das Untersuchungsobject ist. Da indessen gewisse kleinere Veränderungen desselben häufig doch eintreten, so müssen diese während des Verweilens in Sublimat-Alkohol mit blossem Auge, mit der Lupe und, wenn es geht, mit schwachen Vergrösserungen des zusammengesetzten Mikroskops genau beobachtet und notirt, und die Dimensionen des Objectes wieder gemessen werden.

Meist genügen 12 Stunden der Einwirkung des Sublimat-Alkohols; 24 Stunden sind nie zu viel. Nun sind die Gewebe derart fixirt und auch gehärtet, dass die Gefahr einer Schrumpfung bei dem folgenden Schritte der Behandlung äusserst gering ist. Dieser ist das Entwässern, mit welchem man die Entfernung des Sublimats aus den Geweben verbinde. Wir stellen es als allgemeine Regel auf, dass das Object aus dem Fixirungsmedium nicht allmählich, sondern unmittelbar in den zum Entwässern dienenden Alkohol absolutus übergeführt werde. Nur äusserst selten kommen dabei irgend welche Schrumpfungen vor, vorausgesetzt, dass die Fixirung richtig ausgeführt wurde. Die Erhaltung der Gewebe ist dabei immer mindestens so gut, sehr oft bedeutend besser, als bei einer allmählichen Ueberführung. Wenn man aber wegen der bei einem unbekannten Objecte doch vorhandenen Gefahr einer Schrumpfung nichtsdestoweniger dazu greift, so muss sie wirklich allmählich und keine sprungweise sein, sie muss also vermittelst eines Dialysators vor sich gehen. Innerhalb des Dialysators sei mit dem Object darin eine gewisse geringere Menge der Fixirungsflüssigkeit, aussen Alkohol absolutus und auf dem Boden des Gefässes ausgeglühtes Kupfervitriol. Das Verhältniss der beiden Flüssigkeitsmengen sei derart, dass das Object binnen 24 Stunden in Alkohol absolutus zu liegen komme.

Nach weiteren 24 Stunden, während dessen das Object in frischem Alkohol absolutus in der Weise suspendirt sei, dass der sublimathaltige Alkohol, welcher daraus noch heraustritt, zu Boden sinke und mit dem Object nicht in Berührung bleibe, kommt es in eine 0·5-

procentige Lösung von Jod in Alkohol absolutus, worin es, suspendirt wie vorher (und auch im nächstfolgenden Alkohol), so lange verweilt, bis es selbst beinahe die Farbe der Tinctur bekommen hat[1]. Nun kommt es auf 24 Stunden zurück in reinen Alkohol absolutus. Von sämmtlichen bisher gebrauchten Flüssigkeiten muss man mindestens das 50fache, von den Alkoholen besser das 100fache Volumen des Objectes genommen haben; von den weiteren Reagentien genügen viel geringere Quantitäten.

Die nun folgende Procedur ist das Ueberführen in Cedernholzöl nach der Senkmethode. Das Object befindet sich, von noch einmal gewechseltem Alkohol absolutus gerade bedeckt, in einer Probirröhre, welche so weit ist, dass es sich darin nach allen seinen Dimensionen frei bewegen kann und neben sich einer fein ausgezogenen Pipette Raum lässt. Aus dieser lässt man das Cedernholzöl, ungefähr das dreifache Quantum des Alkohols, langsam auf den Boden der Röhre, welcher besser concav als eben ist, unter den dadurch in die Höhe gehobenen Alkohol fliessen, so dass beide Flüssigkeiten durch eine deutlich sichtbare Grenzfläche scharf von einander getrennt seien. Das Object ist mit dem Alkohol in die Höhe gestiegen und befindet sich anfangs ganz in diesem, die obere Cedernholzölfläche, als Basis der Alkoholsäule blos berührend. Allmählich senkt es sich aber immer tiefer in das Oel hinein und sinkt schliesslich auf den Boden. Sobald als dieses geschehen ist, wird zuerst der Alkohol und dann die obersten, mit Alkohol gemischten Schichten des Oels mit einer Pipette vorsichtig abgesogen, um das übrige Oel nicht unnöthiger Weise mit Alkohol zu mengen. Ungefähr nach einer Stunde wird aber auch dieses abgegossen und durch ganz reines, alkoholfreies Cedernholzöl ersetzt.

In dem reinem Cedernholzöl, wo es sich im wahren Sinne des Wortes aufhellt und so weit als möglich durchsichtig wird, mag das Object längere Zeit, bis mehrere Tage verbleiben und weiter beobachtet werden. Wenn das Material blos für Schnittreihen reicht, darf die sorgfältige Untersuchung des aufgehellten Objectes nie unterbleiben, und nur nachdem alles Unterscheidbare gezeichnet, notirt und mit dem Mikrometer gemessen ist, soll man zum Einbetten in Paraffin schreiten. Es ist gut, wenn der Alkohol nicht alles Jod aus dem Object entfernt, und es einen gelblichen bis leicht

---

[1]) Bis zu diesem Punkt kann man anstatt Alkohol absolutus auch den gewöhnlichen, in den Spiritusfabriken hergestellten stärksten Alkohol von etwa 96%, wenn er rein ist, benützen.

röthlichbraunen Ton behalten hat, was die Unterscheidung und besonders das Zeichnen der einzelnen Theile bei durchfallendem Licht sehr erleichtern kann.

Zur Einbettung führe man das Object aus dem reinen Cedernholzöl nach der Senkmethode in eine bei Zimmertemperatur gesättigte Lösung von Paraffin in Chloroform über. Das Paraffin sei von derselben Qualität, welche man als Einbettungsmasse verwenden will und zu diesem Zwecke bereits gehörig vorbehandelt hat, und habe den Schmelzpunkt bei ungefähr 55° C. (eventuell ein oder zwei Grade mehr oder weniger). Die Quantität der Lösung sei mindestens die 10fache der beim Ueberführen benützten Cedernholzölschichte. Nachdem das Object im Chloroform niedergesunken ist, sauge man das Oel, wie vorher den Alkohol absolutus, mit den oberen Chloroformschichten ab, und schüttele das Object ganz vorsichtig einigemal in dem übrig gebliebenen Chloroform, damit das darin etwa noch befindliche Cedernholzöl ausgewaschen werde. Dies ist, je nach der Grösse des Objectes, in ein bis drei Stunden geschehen, und das Gefäss kann mit dem Object in den Thermostat gestellt oder, gut zugeschlossen, auch so lange man will, aufgehoben werden.

Sobald das Object die Temperatur des Thermostats, einige Grade über dem Schmelzpunkt des zum Einbetten zu verwendenden Paraffins, erreicht hat, kommt es daselbst aus dem Chloroform in einen kleinen Apparat, von mir Chloroformentferner[1] genannt, in welchem sich ein Gemisch von gleichen Theilen Chloroform und Paraffin befindet. Hier bleibt es, von der Flüssigkeit immer eben nur bedeckt, ein bis drei Stunden; dann wird es mit dem inneren Gefäss des Chloroformentferners in das äussere eines anderen voll reinen Paraffins, immer von dem Schmelzpunkt des zum Einbetten zu verwendenden, gebracht und zwar blos auf ½-2 Stunden, wobei es aber immer eine möglichst hohe Stellung einnehmen muss, unmittelbar unter der

---

[1]) Anstatt des Chloroformentferners und auch für das Behandeln des Objectes mit den vorhergehenden und überhaupt allen Medien schlagen wir auch einen höchst einfachen Apparat, den man sich aus gehärtetem Filtrirpapier selbst verfertigt, die Objectbrücke, vor. Diese macht erstens die Benützung von anderen Instrumenten, so von Pipetten, Spateln und Pincetten, beim Uebertragen des Objectes von einem Medium in das andere überflüssig und diese Manipulation viel schonender und rascher; zweitens ermöglicht sie am einfachsten die Suspendirung des Objects in der Flüssigkeitsäule in jeder Höhe und drittens kann sie, wie eben gesagt, auch selbst als Chloroformentferner dienen.

Oberfläche der Paraffinsäule und möglichst weit von dem Boden des Chloroformentferners. Nun wird das Object aus dem Chloroformentferner in die Form gebracht; diese ist ein Behälter (Messingrahmen oder dergl.), steht auf dem erwärmten Orientirtischchen und enthält etwa 10 Grade über seinen Schmelzpunkt erhitztes Paraffin. In der Form wird das Object rasch zurechtgelegt, nach einigen Secunden wird Eiswasser durch das Orientirtischchen getrieben, damit das Paraffin sehr rasch erstarre und die Masse, in welcher das Object nun eingebettet ist, so plötzlich wie nur möglich abgekühlt werde.

In unserem Fall, wo es sich um die grösstmögliche Ausnützung eines spärlichen Materials handelt, schneide man nicht mit dem Quermesser Bänder, sondern mit schrägem Messer, bei Bepinselung der Schnittfläche mit einer 1procentigen Celloidinlösung, einzeln abzunehmende Schnitte. Die Schnitte befestige man mit destillirtem Wasser durch Capillarattraction auf dem mit der Schöbel'schen Glastinte numerirten Objectträger in lückenloser Serie und bringe von ihnen auf einem Objectträger nur so viel an, dass die Serie mindestens für sechs solche reiche, damit wenigstens die gleich zu erwähnenden Färbungen alle vorgenommen werden können. Man mache Schnitte von drei verschiedenen Dicken, nämlich von 10 μ, von 5 μ und von $2\frac{1}{2}$ μ. (Dickere liessen sich wegen der Härte des hier vorgeschlagenen Paraffins eventuell nicht mehr tadellos schneiden.) Nimmt die Serie mindestens 18 Objectträger ein, so schneide man in der Weise, dass der erste mit lauter 10 μ dicken, der zweite mit 5 μ, der dritte mit $2\frac{1}{2}$ μ dicken Schnitten, und dann wieder der vierte mit 10 μ dicken u. s. w. bedeckt sei. Ist die Serie kürzer, so sollen die drei verschiedenen Schnittdicken auf demselben Objectträger in gleicher Anzahl auf einander folgen. Die auf den Objectträgern lege artis angetrockneten Schnitte brauchen nun nicht sofort weiterbehandelt zu werden; man kann sie vielmehr in einem Präparatenkasten (oder in einer Mappe), wo sie vor Staub gut geschützt sind, an einem trockenen und nicht zu warmen Ort (damit das Paraffin nicht schmilzt) unbegrenzt aufbewahren.

Die weiteren Proceduren, welche die auf dem Objectträger fixirten Schnitte durchzumachen haben, gehen sämmtlich in Reihen von aufrechtstehenden Glastuben vor sich, in welche die Objectträger hineingestellt werden. (Bei sehr langen Serien treten an die Stelle der einfachen Tuben besondere Färbegläser, welche ganze Reihen von Objectträgern, von einander durch Glasrippen getrennt, fassen können,

oder aber die Objectträger werden in der Farblösung im gewöhnlichen Tubus dadurch paarweise von einander getrennt, dass man zwischen sie auf den Boden der Gefässe etwa 1 cm breite Glasstreifen von Objectträgerdicke stellt. Das sind die einfachsten und billigsten Färbegläser.) Zunächst kommt jeder Objectträger in Aetheralkohol, um das Celloidinhäutchen, welches jeden Schnitt bedeckt, vor dem Lösen des Paraffins zu entfernen; dann in Chloroform, um das Paraffin zu entfernen, weiter nach einander in Alkohol absolutus, in 90procentigen und in 70procentigen Alkohol. In jeder dieser Flüssigkeiten brauchen die Objectträger blos ein paar Minuten zu verweilen. In alkoholische Färbungsmedien kommen sie direct aus dem 70procentigen Alkohol, für wässerige werden sie (mit gewissen Ausnahmen, so z. B. für Safranin) erst in destillirtem Wasser abgewaschen.

Hat man z. B. 6 Objectträger voll Schnitte, so färbe man einen in wässeriger Hämateïn-Thonerdesalzlösung (z. B. Mayer's Hämalaun oder meiner Hämateïnlösung I) und einen in alkoholischer Hämateïn-Thonerdesalzlösung (z. B. in Mayer's Hämacalcium oder meiner Hämateïnlösung II); den dritten doppelt in Hämateïnlösung I und Hämateïn-Kali bichromicum, den vierten in dem Ehrlich-Biondi'schen Dreifarbengemisch, den fünften in Goldchlorid-Ameisensäure (nach mir) einfach und den sechsten doppelt in Goldchlorid-Ameisensäure und Hämalaun (besser Hämateïnlösung I)[1]. Hat man mehr Schnitte und macht man bei den ersten Proben mit allen sechs Färbungen gute Erfahrungen, so vertheile man die Objectträger gleich für alle; ist eine oder die andere Färbung weniger gut gelungen, so verzichte man auf diese und halte sich im weiteren an die anderen. Am ehesten wird die Ehrlich-Biondi'sche Färbung misslingen. Glücklicherweise ist sie leicht auszuwaschen, und dann kann man mit demselben Objectträger eine Dreifachfärbung mit Hämateïnlösung I und Pikrorubin vornehmen. Im Allgemeinen wird man jedoch finden, dass diese Fär-

---

[1]) Zur Färbung mit dem Ehrlich-Biondi'schen Gemisch wähle man besonders jene Theile der Serie von einem ganzen Metazoon aus, welche die Geschlechtsdrüsen enthalten; zur Färbung mit Goldchlorid und Goldchlorid-Hämateïnlösung I diejenigen, in welchen sich das Centralnervensystem oder dessen wichtigste Theile und die Sinnesorgane befinden. Die auf dem Objectträger durch Capillarattraction befestigten Schnitte lassen eine vorläufige Orientirung mit schwächeren, ja sogar mittleren Systemen auch vor dem Entfernen des Paraffins sehr gut zu.

bungen sich ergänzen und alles, was in den Geweben an Schnitten überhaupt nur zu erkennen ist, differenzirt haben, dass man also in dieser Weise zu einer sehr erschöpfenden Kenntniss von der mikroskopischen Beschaffenheit seines Gegenstandes kommen kann.

Die weitere Behandlung, immer in den Glastuben (oder Färbegläsern), führe durch Chloroform zum Einschluss der Schnittreihen in Chloroformbalsam.

Natürlich ist das im Obigen geschilderte Verfahren[1] nicht blos

---

[1]) In der ersten Auflage seines Vademecums (1885) lässt LEE ([1] p. 2) unter dem, wenn auch nicht directen Einfluss der Neapler Embryologenschule die grosse Mehrzahl der mikroskopischen Präparate in der Weise machen, dass man entweder mit Sublimat oder mit einer Pikrinsäuremischung fixirt, in Alkohol auswäscht, mit alkoholischem Boraxcarmin färbt, in Chloroformparaffin einbettet, mit dem Schlittenmikrotom schneidet, und die Schnittreihen in Canadabalsam montirt. Dieses traf für 1885 in der That zu, was aber nach unserer Meinung, nicht so sehr die damalige Ueberlegenheit der Methode über alle andere, als vielmehr die kritiklose Einseitigkeit der damaligen Mikrotechnik bei den meisten Forschern beweist. Nun sagt LEE in seiner zweiten und dritten Auflage von 1890 resp. 1893 (p. 4-5 resp. 5-6), dass jenes Verfahren 1885 zwar noch die classische Methode der mikroskopischen Anatomie gewesen ist, auf diese Bezeichnung aber heute keinen Anspruch mehr machen kann. Mit dem meisten Recht — behauptet er unter dem überwiegenden Einfluss der deutschen Cytologenschule — könnte man heute das folgende Verfahren (oder etwas Aehnliches) als die classische Methode allgemeiner morphologischer Untersuchung, welche viele der vorgeschrittensten Forscher auszuüben pflegen, bezeichnen: Fixiren in FLEMMING's Chrom-Essig-Osmium-Gemisch, Auswaschen in Wasser, Entwässern, Aufhellen mit Cedernholzöl, Einbetten in Paraffin, Aufkleben der Schnitte auf dem Objectträger mit MAYER's Albumin, Färbung mit Safranin oder Doppelfärbung mit Gentianaviolett und Eosin, Einschluss in Balsam oder Dammar. Gerade dieses Verfahren kann aber nach meiner Ueberzeugung mit dem wenigsten Recht als der moderne Typus der allgemeinen morphologischen Untersuchungsmethode hingestellt werden, da es ja blos für Kernstructuren vollkommen Befriedigendes leisten kann, und auch das nicht bei allen Kernarten und in allen Zuständen derselben. Für sämmtliche übrigen Gewebsbestandtheile und Structuren leistet es eigentlich weniger als das 1885 gerühmte Verfahren. Und da es bereits 1885 in allen Einzelheiten bekannt und von vielen, namentlich was die Art und Weise der Fixirung und der Färbung betrifft, von FLEMMING selbst mit Vorliebe und dem grössten Erfolg ausgeübt wurde, hätte es schon damals mit demselben Recht wie heute als classisch bezeichnet werden können. Andererseits hat jene frühere Methode der Fixirung in Sublimat und Färbung in Boraxcarmin auch heute noch mehr Anspruch auf allgemeine Anwendung, als die der Fixirung im Chromgemisch und die Färbung in Safranin etc. Wie sich das Verfahren, welches nach unserer eigenen Praxis die relativ grösste Ausnützung eines und desselben Objectes erlaubt, gestalten soll, haben wir

für in toto zu behandelnde Organismen, sondern, mutatis mutandis, auch für einzelne Organe oder Gewebsstücke, falls man sich ihnen gegenüber in derselben Lage befindet, anzurathen. Dagegen müssen Objecte, welche zu gross sind, um die beschriebenen Proceduren in einem Stück mit Vortheil durchmachen zu können, zunächst makroskopisch oder unter dem Präparirmikroskop zergliedert, und die topographische Anordnung ihrer Theile sowohl, als auch die sonstige Beschaffenheit derselben mit Nadel und Scheere, Messer und Pincette eruirt werden.

Für die Grenze, wo die Anwendbarkeit der vorigen Massregeln aufhört, lässt sich keine Norm aufstellen. Sie hängt von den besonderen Eigenschaften des Objectes ab, namentlich von seiner Durchdringbarkeit für die anzuwendenden einzelnen Medien, von seiner Widerstandsfähigkeit gegen dieselben und von der Schnittfähigkeit, welche es beim Einbetten erlangt. Da man jedoch über diese Eigenschaften, wenn man vor einem in mikrotechnischer Hinsicht unbekannten Object steht, nicht immer orientirt sein und höchstens nach Analogie anderer, ähnlicher Objecte gewisse Schlüsse machen kann, wollen wir dem Anfänger gewisse Anhaltspunkte zu geben versuchen.

Für jedes Object berechne er zunächst, wie gross ungefähr die grösste Schnittfläche in jeder der Richtungen, in welchen er zu schneiden hat, sein würde. Denn auch vorausgesetzt, dass die Gewebe des Objectes beim Einbetten in Paraffin eine gute Schnittfähigkeit erlangen und möglichst geringe Unterschiede der Consistenz zeigen (wie z. B. schon dotter- und noch knochenlose Embryonen von Wirbelthieren), kann man auf tadellose Schnitte von 2-3 μ nur dann rechnen, wenn die Schnittfläche unter einem qcm bleibt; ist sie nicht viel über 2 qcm, so müssen Schnitte von 5 μ Dicke, unter der vorausgeschickten Bedingung, noch leicht zu machen sein, dagegen kann für 10 μ Schnittdicke die Schnittfläche ganz gut auch 4 qcm, in besonders günstigen Fällen noch mehr, bis zu 4 cm jede Seite, sein.

Daraus folgt, dass das von mir vorgeschlagene Verfahren nur dann in allen seinen Einzelheiten durchzuführen ist, wenn keine der Richtungsebenen des Körpers 1 qcm erreicht. So ist es z. B. sehr

---

eben geschildert, wollen es aber keineswegs als die classische Methode des Morphologen hinstellen. Dieser wird, je nach den Umständen, Dutzende von ganz heterogenen Problemen verfolgen, und ein jedes Problem erfordert eine ganz besondere Methodik; eine solche kann für den gegebenen Fall die classische sein, sie ist es aber nicht gleichzeitig auch für andere.

oft der Fall, dass langgestreckte Würmer Transversalschnitte sehr gut von jeder Dicke zulassen, Medial- und Frontalschnitte dagegen nicht. In solchen Fällen ist es das Beste, die für diese Schnittrichtungen bestimmten Exemplare nach dem Fixiren und Entwässern (also in Alkohol absolutus) mit einem scharfen Rasirmesser durch parallele Transversalschnitte in zwei, drei oder mehr gleich grosse Stücke zu zerschneiden. Diese zerlegt man entweder einzeln in gleich geordnete Reihen von Schnitten, deren Dicke in gleicher Weise wechselt, damit die Fortsetzung eines jeden Organs oder Systems in der von dem folgenden Stück gemachten Serie sicher aufgefunden werden kann; oder aber man bettet die einzelnen Stücke in ihrer natürlichen Reihenfolge unmittelbar nebeneinander in denselben Paraffinblock ein und schneidet sie auf einmal, vorausgesetzt, dass die Schnittfläche dadurch nicht zu gross wird (z. B. für die dünnsten Schnitte unter einem qcm bleibt).

Bei metamerischen Körpern (Thieren oder Organsystemen, wie u. A. das Centralnervensystem der Wirbelthiere), welche wegen ihrer Länge endlose Serien ergeben würden, genügt es, die auch äusserlich differenzirten Segmente oder Segmentgruppen in lückenlose Serien zu zerlegen; die gleichartigen Segmente müssen nicht alle für Schnitte verbraucht werden; man kann sie als besondere Exemplare des Untersuchungsmaterials betrachten und verschiedenen mikrotechnischen Behandlungsweisen unterwerfen.

Ob nun das Zerstückeln eines solchen Objectes nach vollendeter äusserer Untersuchung schon im frischen Zustande erfolgen soll, oder ob man es bis nach dem Fixiren und der durch das Entwässern vollendeten Härtung in Alkohol absolutus (oder blos starkem Alkohol) aufschiebe, hängt von der Beschaffenheit des Objectes, namentlich seiner natürlichen Widerstandsfähigkeit gegen den mechanischen Eingriff des Messers ab. Im letzteren Fall kann das Zerschneiden in einer viel schonenderen Weise geschehen, in dem ersteren lassen die Stücke eine vielseitigere mikrotechnische Ausnützung zu.

Handelt es sich dagegen um das makroskopisch oder unter dem Präparirmikroskop vorzunehmende Zergliedern eines noch grösseren Objectes, von welchem man blos ein Exemplar besitzt, so thut man unter allen Umständen besser, es zuerst zu fixiren, in starken (wenn nicht absoluten) Alkohol zu übertragen, daselbst die eventuellen Reste des fixirenden Agens (z. B. das Sublimat) aus den Geweben zu entfernen und dann in 70procentigem Alkohol oder noch besser in Glycerin-Alkohol zu präpariren. Die möglichst unversehrt herauspräparirten Organe (und Theile der verschiedenen Gewebscomplexe,

z. B. Körperwand, Darmwand u. s. w.) werden dann eingebettet und die paarigen oder mehrmals wiederholten in verschiedenen Richtungen in lückenlose Serien zerlegt. Auch das zweite Exemplar behandelt man besser so wie das erste, damit auch die in der Einzahl vorhandenen Organe wenigstens in zwei Richtungen bei gleicher Behandlung geschnitten werden können. Erst das dritte Exemplar zergliedere man unfixirt in einer dem normalen Kochsalzgehalt des Objectes entsprechenden Kochsalzlösung. In je verschiedenerer Weise man die so herauspräparirten Organe und Gewebe zu behandeln versteht, um so besser wird man sein Material ausgenützt haben.

§ 16.

Nothwendigkeit einer vielseitigen Mikrotechnik. Behandlung eines reichlichen Materials.

Wenden wir uns nun zu dem Fall, wo das Untersuchungsmaterial in reichlicher Menge zur Verfügung steht; der Anfänger wird sich wohl meistens einem solchen gegenüber finden. Hier handelt es sich nicht mehr darum, jedes Object zu möglichst vielerlei Untersuchungsweisen auszunützen, sondern jede Methode der Untersuchung in möglichst vollkommener Weise auszuführen, wenn es auch einen noch so grossen Aufwand von Material kosten sollte.

Natürlich müssen auch die im obigen erwähnten Methoden sämmtlich herbeigezogen werden, aber nicht zuerst jene, und neben ihnen auch eine Anzahl von anderen. Je specieller die Frage, welche ein in der Mikrotechnik erfahrener Forscher an einem ihm sonst bereits aus eigener Anschauung, aus eigener Arbeit bekannten Material beantworten will, um so gerader und kürzer ist der Weg, worauf er seinem Ziele zuschreiten kann; eventuell genügt ihm eine einzige besondere Methode, jedoch nur dann, wenn diese in den von ihr geforderten Leistungen bereits vollkommen ausgeprobt ist, und die nach ihr erhaltenen mikroskopischen Bilder in ihrer Natur schon sicher bekannt und keiner weiteren Controlle bedürftig sind. Ist dieses aber noch nicht der Fall, so kann er über ihre richtige Deutung nur dann eine gewisse Sicherheit erlangen, wenn er auch Methoden anderer Natur herbeigezogen hat, und die mit diesen gewonnenen mikroskopischen Bilder jener Deutung nicht nur nicht widersprechen, sondern sie direct bestätigen. Die Vernachlässigung dieser ersten Regel jeder mikrographischen Untersuchung hat eine

ganze Reihe von in der Geschichte der mikroskopischen Wissenschaften berühmten Irrthümern zur Folge gehabt: Kunstproducte wurden für natürliche Gebilde gehalten und beschrieben, die Beschaffenheit zahlreicher Elemente falsch geschildert und die Anwesenheit von Elementen an Stellen, wo sie nicht vorhanden sind, behauptet und umgekehrt.

Ist aber auch eine Specialmethode für gewisse Objecte noch so gut ausprobirt, so kann sie den Forscher, welcher sie für ein nach ihr noch nicht behandeltes, neues Material versuchen will, von der Anwendung der verschiedensten Controllmethoden doch nicht befreien. Diese sind hier beinahe ebenso nothwendig, als ob es sich um eine ganz neue Methode handelte, deren Leistungen noch nicht endgültig festgestellt sind. Ueberhaupt sollte sich auch der erfahrenste Forscher einem Untersuchungsobject gegenüber, welches er aus eigener Anschauung, aus eigenen Arbeiten noch nicht kennt, als einen Anfänger betrachten, welcher sein Material, um die mikroskopische Beschaffenheit desselben kennen zu lernen, nach den gleich zu erwähnenden, verschiedenen Methoden durcharbeiten muss. Nur nachdem er dieses gethan hat, kann er mit gutem Gewissen zur Beantwortung von speciellen Fragen durch Specialmethoden schreiten. Nie kann er wissen, ob in einem ihm unbekannten Object nicht irgendwelche Eigenthümlichkeiten der Organisation vorliegen, welche auf jene Specialmethode mit mikroskopischen Bildern reagiren, die man bei anderen Objecten auf Gebilde und Verhältnisse ganz anderer Natur zu beziehen gewohnt ist[1].

Wenn nun eine vielseitige Methodik ein wesentliches Erforderniss gewissenhafter Arbeit auch des Forschers ist, so ist sie für den Anfänger die hauptsächlichste Bedingung des gründlichen Aneignens mikrographischer Kenntnisse. Er lernt dadurch, dass er ein Object nach zwanzig verschiedenen Methoden durcharbeitet, sicherlich mehr, als wenn er sich Präparate von zwanzig verschiedenen Objecten nach

[1]) Wenn z. B. Jemand die peripherische Vertheilung der Nervenfasern von Lumbricus nach der GOLGI'schen Chromsilbermethode untersuchen will und nicht bereits nach anderen Methoden erfahren hat, dass es in der Grundgallerte des Hautmuskelschlauchs dieser Thiere ein reich verzweigtes, sehr feines Spaltensystem für die Circulation der Lymphe giebt, und diese Spalten nicht nothwendigerweise auch in ihnen verlaufende Nervenfibrillen beherbergen müssen, so wird er diese Spalten, welche sich mit Chromsilber füllen, im mikroskopischen Bilde als feine, scharfe Linien erscheinen und sehr oft zu den Nervenstämmen führen (d. h. mit den Lymphspalten der Nerven communiciren), ohne Weiteres als Nerven beschreiben.

einer und derselben Methode verfertigt. Wie er die Bearbeitung seines Materials in diesem Sinne am zweckmässigsten einrichten wird, werde ich im Folgenden anzugeben versuchen. Zuerst seien mir aber noch einige Worte über die Wahl der Methoden im Allgemeinen gestattet.

Der Wahlspruch eines jeden Mikrographen sei: die vielseitigste Mikrotechnik mit den einfachsten Mitteln, namentlich mit der geringsten Anzahl von Reagentien! Von den verschiedenen, im Wesentlichen gleichwerthigen Mitteln, welche für denselben Zweck in die Mikrotechnik eingeführt wurden, benütze er nicht bald das eine, bald das andere, sondern suche sich mit den nur aus eigener Praxis erlernbaren Feinheiten der Anwendung eines bestimmten Mittels vertraut zu machen; denn sogar ein caeteris paribus minderwerthiges Mittel leistet, wenn man aus eigener Erfahrung damit umzugehen gelernt hat, mehr, als ein sonst vielleicht etwas besseres, in dessen Anwendung man sich blos an Mittheilungen von Anderen halten kann. Im Interesse des Anfängers werden wir bei der Aufzählung verschiedener solcher Mittel dasjenige stets angeben, welches in unseren eigenen Händen die besten Dienste geleistet hat. Von den verschiedenen Methoden, welche zu demselben Ziel führen, wähle man zunächst immer diejenige, bei welcher die geringsten physikalischen und chemischen Eingriffe, namentlich aber die geringste Anzahl von Reagentien ins Spiel kommen. Erstens wird man in der Ausführung dieser Methode am ehesten die nothwendige Fertigkeit erlangen und zweitens wird man die Resultate von dieser am leichtesten controlliren und auf natürliche Verhältnisse zurückführen können. Der eventuelle grössere Aufwand an Zeit, den sie kosten mag, darf hier nicht in Betracht kommen. Man darf ihn, wenn der wissenschaftliche Vortheil, welcher daraus resultirt, noch so klein ist, nicht scheuen und letzteren nicht verschmähen.

Bei der gegenwärtigen Entwickelung der Mikrotechnik und in einer Zeit, wie die unsrige, wo jedes Jahr eine Unzahl von neuen Mitteln und Methoden uns in den Weg wirft, ist ein gewisser Conservativismus sehr angezeigt. Entspringen Methoden nicht aus einem wirklich vorhandenen Bedürfniss der wissenschaftlichen Untersuchung, so haben sie auch keinen Werth. Im Gegentheil schadet jede neue Methode, welche nicht nothwendig ist, schon insofern, als ihre Ausführung uns Zeit raubt, ohne uns durch neue Kenntnisse zu bereichern. Besonders der Anfänger halte sich an die alten, bewährten Methoden und suche diese zu ergründen. Mit neuen zu experimentiren ist nicht seine Sache.

Die mikrotechnische Bearbeitung eines Objectes zerfalle in drei Abschnitte, deren allein zweckmässige Reihenfolge die hier angegebene ist. Der erste Abschnitt sei die Verfertigung von mikroskopischen Präparaten, welche zur allgemeinen Orientirung über die Anordnung der Theile, die den Organismus, das Organ oder das Gewebestück zusammensetzen, dienen. Der zweite Abschnitt sei das Herstellen von Präparaten, auf deren Grund eine mikrographische Analyse erfolgen kann, nach Methoden, welche uns dazu befähigen, die Theile eines Ganzen voneinander zu trennen, zu isoliren und so einer eingehenden, von der Umgebung nicht beeinflussten Beobachtung zu unterwerfen. Gegeben ist das Ganze, gesucht werden die Theile. Der dritte Abschnitt endlich verschaffe uns die nothwendigen Mittel für die mikrographische Synthese durch Methoden, welche uns in den Stand setzen, aus den im Präparat gegebenen Theilen die Beschaffenheit des Ganzen zu erkennen, das Ganze aus seinen Theilen zu reconstruiren. Die Resultate des ersten Abschnittes dienen als Wegweiser beim Ausführen des zweiten und dritten; der dritte giebt die Controlle und die höchste Bestätigung der Resultate des zweiten. Nehmen wir nun als ein Beispiel, welches für die vielseitigste Bearbeitung geeignet ist, einen ganzen Organismus, und erörtern daran die obige Disposition!

Die Mittel der allgemeinen Orientirung sind erstens die Beobachtung in toto, zweitens das Zergliedern mit Nadel und Scheere, Messer und Pincette, drittens das Verfertigen von topographischen Schnitten.

Die Beobachtung in toto bezieht sich auch hier sowohl auf die Oberfläche, als auch auf optische Durchschnitte des lebenden, des fixirten und aufgehellten, eventuell vorher im Stück gefärbten Objectes. Das alleinige Bestreben der Fixirung braucht hier die Erhaltung der Form des Gesammtkörpers und der einzelnen Organe zu sein. Es muss also das einfachste Fixirungsmittel gewählt werden, welches diesem Zwecke vollkommen entspricht, wenn es auch die feinere histologische Beschaffenheit minder gut erhält; höchstens die Kerne der Zellen sollen eine gute Färbbarkeit behalten. In manchen Fällen genügt hier ein Fixiren mit Alkohol, besser gesagt eine blosse Abtödtung und Härtung darin. Oft kann es gleich 70procentiger sein; bei zarten oder sehr contractilen Objecten ist ein allmähliches Zugiessen von Alkohol zum Medium, in welchem sie sich befinden, bei schwer durchdringlichen siedender, starker bis absoluter Alkohol (Hineinwerfen oder Ueber-

giessen) angezeigt. Heisses Sublimat, Pikrinsäure (oder Pikrinsalpetersäure), Chromsäure (mehr oder weniger verdünnt, mit oder ohne Zuthat von etwas Osmiumtetraoxyd, im letzteren Falle von ganz kurzer Einwirkung) oder Sublimat mit Kupfersulfat werden die Fixirungsmittel sein, zu welchen man greifen wird, wenn nicht schon der Alkohol zum Ziele führt. Zur Stückfärbung wähle man hier ein Carmin, am bequemsten MAYER's Paracarmin. Wenn das Object dicker ist und die Färbung länger dauert, ist ein Ausziehen des Farbstoffes in Alkohol mit $2\frac{1}{2}$ % Eisessig, bis nur die Zellkerne gefärbt bleiben, unerlässlich. (Für nicht grosse oder leicht durchdringbare Objecte ist der alkoholische Boraxcarmin und Ausziehen des Farbstoffes — bis beinahe nur die Kerne gefärbt bleiben, die hier besonders feurig roth werden — in 70 % Alkohol mit $\frac{1}{4}$ % Salzsäure gelegentlich noch besser.) Zum Aufhellen (im eigentlichen Sinne) des durchgefärbten Objectes nehme man Nelkenöl; zum Einschluss, wenn seine Dimensionen die Verfertigung eines Dauerpräparates zwischen Objectträger und Deckglas in toto zulassen, Canadabalsam. Zum einfachen Aufheben des einmal schon aufgehellten Objectes für spätere Beobachtung diene nicht Nelkenöl, sondern Cedernholzöl. Ungefärbte Objecte helle man in Glycerin oder Essigsäure-Glycerin auf; auch der Einschluss oder ein anderweitiges Aufheben geschehe bei diesen in Glycerin. Objecte mit chitinigem oder ähnlichem Panzer helle man unter Anderem auch dadurch auf, dass man die Weichtheile mit Kalilauge zerstört, in Wasser und Glycerin löslich macht und so auswäscht, damit die Formen, welche wegen des sie bedingenden Chitins doch erhalten bleiben, schärfer zu Tage treten. Diese können, falls sie stärker gefärbt sind, besser in Balsam, falls sie blasser sind, in Glycerin eingeschlossen werden. Objecte, die an natürlichem Pigmente allzureich sind (eventuell durch Osmiumtetraoxyd zu sehr geschwärzt wurden), müssen durch Bleichen durchsichtig gemacht werden, was, dem Zwecke einer allgemeinen Orientirung vollkommen entsprechend, am einfachsten nach der MAYER'schen Bleichmethode durch frei werdendes Chlor oder Oxygen bewerkstelligt wird, natürlich vor der eventuellen Stückfärbung. (Wo es sich dagegen um die Erkenntniss feiner histologischer Einzelheiten handelt, ist es am rathsamsten, das Pigment mit in den Kauf zu nehmen, oder sich mit dem Wenigen zu begnügen, was davon bei längerer Einwirkung auf Schnitte das Chloroform oder unter Einwirkung des Lichtes [directen Sonnenstrahlen]

eine 1proc. Jodlösung in 90proc. Alkohol zu lösen vermag. Erscheint das Entpigmentiren doch unvermeidlich, so lasse man auf die am Objectträger festgeklebten Schnitte vor dem Färben die GRENACHER-sche Mixtur zum Lösen des Pigmentes einwirken.)

Das Zergliedern unterlasse man, wo Material reichlich zur Verfügung steht, auch dann nicht, wenn das Object so klein ist, dass die nothwendigen Manipulationen nur bei stärkeren Vergrösserungen (bis zu 50fachen) unter dem Präparirmikroskop möglich sind. Ein solches Object wird besser vorher fixirt und mit Alkohol weiter behandelt; das Zergliedern selbst nehme man, je nachdem, in destillirtem Wasser, in 30-70procentigem Alkohol oder verdünntem Glycerin (30-50procentigem) vor. Oft wird es (bei kleineren Objecten) angezeigt erscheinen, dem Zergliedern eine Stückfärbung vorausgehen zu lassen; in diesem Fall präparirt man am besten in concentrirtem oder nur wenig verdünntem Glycerin. (Von den ätherischen Oelen ist zu diesem Zwecke nur Cedernholzöl anzurathen, aber nicht so gut als Glycerin; Kreosot macht auch nicht brüchig, ist aber aus anderen Ursachen weniger zu empfehlen.)

Bei einigen Exemplaren des Objectes erleichtere man das Zergliedern durch Vorbehandlung mit Agentien, welche Kitt- und interstitiale Grundsubstanzen zu lösen oder zu quellen und daher besonders das Bindegewebe zu lockern im Stande sind. Natürlich darf ihre Einwirkung nicht so intensiv sein oder nicht so lange dauern, dass während des Zergliederns auch die einzelnen Organe oder Systeme in ihre weiteren Bestandtheile zerfallen. Kochendes Wasser (kurze, je nach dem Objecte wechselnde, aber immer längere Zeit als zum Zwecke des Fixirens), 20-50-proc. Alkohol (Tage bis Wochen, je stärker der Alkohol für umso längere Zeit), 1 $^0/_{00}$ Salicylsäure in Wasser mit oder ohne Zuthat von Kochsalz bis zu 10 $^0/_0$ (Tage bis Wochen), MÜLLER'sche Flüssigkeit (2-3 Tage), dünne Chromsäurelösungen bis zu 1 $^0/_{00}$ (Tage bis Wochen), das von mir für Hirudineen angegebene Säuregemisch (Wasser, Glycerin, Alkohol, Essigsäure und Salpetersäure) sind die Medien, welche man nacheinander versuchen soll. Die drei letzteren müssen aus dem Objecte vor dem Präpariren durch längeres Waschen in destillirtem Wasser entfernt werden. Das Zergliedern geschieht auch hier in verdünntem Glycerin am besten.

Wie einerseits das Zergliedern auch von kleinen Objecten versucht werden muss, so soll man andererseits das Einbetten von ver-

hältnissmässig grossen Objecten zur Herstellung von orientirenden Durchschnitten nicht versäumen, sobald man über reichliches Material verfügt. Die Fixirung und Färbung kann hier dieselbe sein, wie zur Beobachtung in toto (p. 159-160). Die Schnitte können ziemlich dick sein und brauchen bei grösseren Objecten keine lückenlose Reihe zu bilden. Genug, wenn durch sie die anatomisch verschiedenen Regionen des Körpers sämmtlich und zwar in allen Hauptrichtungen vertreten sind. Die Einbettung geschehe bei kleineren Objecten in Paraffin, bei grösseren in Celloidin, bei den grössten in Wasser durch Gefrierenlassen. Das Gefrierenlassen vereinige man, wenn möglich, mit einem vorhergehenden flüchtigen Einbetten in Celloidin.

Dickere Schnitte in Paraffin, wie sie bei grösseren Objecten allein möglich sind, erfordern eine andere Paraffinsorte, als die, welche für eine lückenlose Serie von dünneren Schnitten auf Seite 150 vorgeschlagen wurde, nämlich ein weicheres, weniger brüchiges Paraffin von niedrigerem Schmelzpunkt. Das Object selbst wird umso brüchiger, je länger es im geschmolzenen Paraffin verweilen muss, aber umso weniger brüchig, je niedriger die Temperatur des flüssigen Paraffins. Nun bedarf es, wenn es grösser ist, eines langen, bis zu 48stündigen Verweilens im geschmolzenen Paraffin, um vollkommen durchtränkt und vom Chloroform befreit zu werden. Deshalb wähle man immer das Paraffin von dem niedrigsten Schmelzpunkt, welches bei der gegebenen Laboratoriumtemperatur Schnitte von 15 bis, je nach der Grösse des Objectes, 30 μ noch machen lässt. Beim Einbetten in Paraffin verfahre man in der auf Seite 149 und 150-151 angedeuteten Weise.

Da es sich weiter zunächst blos um eine allgemeine Orientirung handelt, ist hier das Bänderschneiden mit dem Quermesser ganz angezeigt. Man versäume nicht, die auf dem Objectträger nacheinander anzubringenden Stücke des Bandes nach der Methode von Gulland auf warmem Wasser zu strecken und durch Capillarattraction aufzukleben, oder aber man befestige die Schnitte (besonders wenn sie dicker sind und das Object in Chromsäure oder Chromgemischen fixirt wurde) auf dem Objectträger nach meiner combinirten Eiweiss-Wassermethode, welche hier ganz besonders empfehlenswerth ist. Auch einzelne Schnitte, welche man rasch zur Untersuchung geeignet machen will, klebe man in dieser Weise auf. Ist die Schnittfläche so gross, dass nur wenige Schnitte, oder gar nur einer, auf dem Objectträger Platz finden, so

kommen die Vortheile des Quermessers gegenüber denen des schrägen Messers nicht mehr zur Geltung; dann nutze man die Schneidenlänge so viel als nur möglich aus, und man wird sich auch des Kunstgriffes der Celloidinirung der Schnittfläche mit grossem Vortheile bedienen. Die einzelnen Schnitte können mit Siegellacklösung in Alcohol absolutus einfach in der Weise numerirt werden, dass man die betreffende Ziffer, welche sofort trocknet, mit einem feinen Pinsel auf die Schnittfläche in die dem Messer entgegengesetzte und vom Object nicht eingenommene Ecke schreibt. Die grossen, sich leicht faltenden Schnitte sollen von dem Messer zunächst auf kaltem Wasser oder Eiweisswasser in einem grossen, niedrigen Gefäss gesammelt, und die eventuell umgeschlagenen Ecken und Seiten des Schnittes mit einem Pinsel ausgebreitet werden. Zum vollkommenen Ausglätten und Ausdehnen wird dann, wenn keine Schnitte mehr auf der Wasserfläche Platz haben, das ganze Gefäss bis auf 35° C. erwärmt. Nach dem Erkalten kommen die Schnitte schliesslich auf die mit Schöbel'scher Tinte in entsprechender Weise vorher numerirten Objectträger.

Sobald jedoch die Schnitte wegen ihrer Grösse (oder aus irgend einem anderen Grunde) dicker denn 15 μ sein müssen, ist das Einbetten in Celloidin auch für die allgemeine Orientirung, für die Zwecke der Mikrotopographie beinahe immer vorzuziehen. Oft wird wegen der geringen Eindringungsfähigkeit des Celloidins ein einmaliges Einbetten nicht zum Ziele führen; dann zerschneide man das zunächst blos provisorisch eingebettete Object in der den zu machenden Schnitten entsprechenden Richtung in mehrere Scheiben und bette diese lege artis noch einmal ein. (Wenn das Zerschneiden parallel mit der Mikrotomschnittrichtung nicht möglich oder sehr unsicher ist, so kann man das Object vertical auf diese Richtung zerschneiden und die Stücke, nachdem sie auch von der dicksten Celloidinlösung durchtränkt sind, wieder zusammenlegen und so einbetten und das Ganze so weiter behandeln, als ob es noch in einem Stück wäre.) Die Schnitte werden, nachdem ihr Ausbreiten und das Entfernen des Alkohols aus ihnen auf Bergamottöl erfolgt ist, der Reihe nach gleich mit den numerirten Objectträgern aufgefangen. Auf diese presse man sie mit satinirten Löschpapierstreifen an, wobei man auch das überschüssige Oel entfernt, und das Präparat ist nach Auflegen des Deckglases mit einem Tropfen Chloroformbalsam fertig.

Nach der Gefriermethode macht man keine längeren Schnitt-

reihen, sondern blos einzelne Orientirungsschnitte von beträchtlicher Dicke, welche auf dem Objectträger nicht besonders fixirt werden müssen, sondern, eventuell nach Aufhellen mit Essigsäureglycerin, einfach in concentrirtes Glycerin einzulegen sind.

Die grössten Schnitte, welche heutzutage gemacht werden, sind von gut gehärteten Wirbelthiergehirnen, und diese bedürfen für die gewünschte Schnittdicke überhaupt keiner Einbettung, höchstens einer Einhüllung in Celloidin.

Nachdem man die zur allgemeinen Orientirung nothwendigen Präparate in der geschilderten Weise hergestellt und gehörig durchgearbeitet hat, kann man zur mikrotechnischen Analyse seines Objectes übergehen. Diese besteht, wie erwähnt, lediglich in der Isolirung der Theile, mögen letztere die einzelnen Organsysteme (z. B. Blutgefässsystem und Nervensystem), die einzelnen Gewebselemente (Zellen und Zellproducte) oder die Structurbestandtheile der Gewebselemente selbst sein. Alle kann man auf zwei wesentlich verschiedenen Wegen isoliren. Der eine führt zur thatsächlichen, mechanischen Trennung der Theile, der andere zu ihrer scheinbaren, optischen Isolirung. Jener ist die einfachere Methode, welche auch älter ist und eine grosse Vergangenheit besitzt, wie es in den Capiteln über die Geschichte der Mikrotechnik dargethan wurde; auch ist es rathsam, zuerst diese an seinem Material anzuwenden. Die letztere, weit vollkommenere ist verhältnissmässig complicirter und zum Theil eine noch junge Methode von grosser Zukunft, welcher deshalb eine ganz besondere Aufmerksamkeit gebührt.

Die mechanische Trennung der Theile soll auch hier, wie bei der bereits erörterten Art des Zergliederns, zunächst ohne besondere Vorbehandlung, blos durch energischere mechanische Eingriffe vor sich gehen; erst dann durch Behandlung mit gewissen chemischen (eventuell thermischen) Agentien, welchen nur noch minimale mechanische Eingriffe folgen müssen. Der Anfänger soll, mit anderen Worten, erst die Methoden des Ausbreitens, eventuell mit Plattdrücken und Auspinseln combinirt, und des Zerzupfens und Zerquetschens (eventuell Zerhackens) versuchen, um dann zu den eigentlichen Macerationen überzugehen.

Ausbreiten wird man abgezogene oder anderswie lospräparirte Membranen und Gewebe mit flüssiger oder sehr weicher Intercellularsubstanz oder andere Körperflüssigkeiten oder mit dem Messer abgeschabte Bestandtheile. Natürlich be-

obachte man auch diese, ebenso wie die durch die übrigen mechanischen Proceduren isolirten Theile, vor Allem in überlebendem Zustande in ihren eigenen Säften. Nur wenn letztere zur Untersuchung nicht genügen, versetze man sie mit normaler Kochsalzlösung. Die feuchte Kammer, die Gaskammer und der erwärmbare Objecttisch sollen, je nach den Umständen, auch zu ihren Rechten kommen.

Von den mechanisch isolirten Theilen versuche man die Elemente auf färberischem Wege weiter zu isoliren, nachdem man die durch das Absterben spontan auftretenden und durch verschiedene Reagentien (hauptsächlich Essigsäure, eine Mineralsäure, Kalilauge und starke Kochsalzlösung oder concentrirtes Glycerin oder Zuckerlösung) unter dem Mikroskop hervorgerufenen optischen Differenzirungen bereits notirt hat. Zum Färben gewisser Elemente, ohne sie zu tödten, wähle man Bismarckbraun und Methylenblau, ersteres um die Kerne, letzteres um gewisse Zellproducte zu tingiren (namentlich die Granula ALTMANN's, welche grösstentheils Se- oder Excretionsproducte sind, und eventuell die leitende Substanz des Nervensystems, welche jedoch meist erst durch besondere Methoden der optischen Isolirung sichtbar wird). Um die Structur der Kerne, bei gleichzeitiger Tödtung und Verhinderung von spontanen postmortalen Veränderungen durch eine zeitweilige Fixirung, hervortreten zu lassen, wende man wässrige Methylgrünlösung mit Essigsäure versetzt an. Membranartige, eventuell durch die HOGGANS'schen Ringe oder zwei ineinander schiebbare Glasringe ausgebreitete Gebilde imprägnire man auch frisch mit Argentum nitricum, am besten nach RECKLINGHAUSEN, mit den Vorsichtsmassregeln RANVIER's.

Dickere Gewebsschichten versuche man durch vorsichtiges Plattdrücken dünner und so der Untersuchung mit stärkeren Vergrösserungen zugänglich zu machen. Sehr oft genügt dazu der Druck des nicht unterstützten Deckglases, welchen man eventuell durch Klopfen mit einer Präparirnadel auf das Deckglas steigern wird. Um einen stärkeren gleichmässigen Druck auszuüben, wird man sich irgend eines Compressoriums bedienen. Viele Organismen von einer Dicke bis über 1 mm lassen sich in dieser Weise ohne abzusterben so dünn machen, dass man sie mit den allerstärksten Vergrösserungen durch und durch beobachten kann[1].

---

[1]) Ein ganz eclatantes Beispiel sind viele Hirudineen, welche, nachdem

Zerquetschen soll man, im Gegensatz zu dem Zerzupfen, hauptsächlich solche Objecte, deren Bestandtheile man, ohne sie ganz von einander zu trennen, deshalb in eine grössere Entfernung als die natürliche von einander bringen will, um die Art und Weise ihrer Verbindungen mit einander und ihrer Ausbreitung in der Grundsubstanz durch Fortsätze leichter und oft sicherer, als zum Beispiel auf Schnitten, festzustellen. Das Zerquetschen geschehe durch einen gleichmässigen, inzwischen nicht aufhörenden Druck, welcher lieber gering und andauernd, als stark und rasch sein soll.

Dünne Schichten fixire man, einerlei in welcher Weise man sie erhalten hat, schliesslich auch durch Antrocknen an den Objectträger oder an das Deckglas. Solche Deckglaspräparate oder besser Objectträgerpräparate von Blut und anderen Körperflüssigkeiten mit suspendirten Formelementen sowie von weichen Geweben sind in vielen Fällen besonders lehrreich, und man versäume es nie, sie sich zu verschaffen. Es wird ein Tropfen der betreffenden Flüssigkeit auf das Glas gestrichen (wie? s. im IV. Abschn.) oder ein kleines Stückchen Gewebe zwischen zwei Deckgläschen oder Objectträger gelegt und, wenn das Gewebsstückchen durch langsames, nicht nachlassendes Pressen zu einer dünnen Schichte zerdrückt ist, werden die Deckgläschen über einander vorsichtig weggeschoben, nicht von einander abgehoben. (Will man nicht färben oder anderswie nachbehandeln, so zerdrücke man sie immer zwischen Objectträger und Deckglas, welches man dann ja nicht verschiebe.) Das Antrocknen der auf ihnen befindlichen, gleichmässig dicken Schichten geschehe zum Theil langsam bei Zimmertemperatur, zum Theil rasch bei erhöhter Temperatur (auf einer erhitzten Kupferplatte oder indem man mit dem Präparat, als wenn man einen Schnitt machte, einigemal durch eine Spiritusflamme fährt) oder im Exsiccator (am raschesten über Schwefelsäure im Vacuum). Ungefärbt schliesse man solche Präparate in Luft ein, gefärbt in Chloroformbalsam, welchem blos für einige Theerfarben Xylolbalsam vorzuziehen ist (s. im XIV. Abschn.). Zum Färben wende man hier Hämateïnlösungen und Theerfarbstoffe an, u. A. Methylenblau, Fuchsin und Rubin, Eosin und Ehrlich's Dreifarbengemische (Methylgrün-Rubin-Orange und Indulin-Rubin-Aurantia) in wässeriger Lösung und Eosin in Alcohol absolutus. Natürlich

---

sie stundenlang dünn gedrückt untersucht worden sind, sobald der Druck aufhört, ihre ursprüngliche Gestalt wieder zurückbekommen und weiterleben.

bedürfen diese Deckglaspräparate der grössten Kritik und der vielseitigsten Controlle, um wissenschaftlich verwerthbar zu sein.

Eine Art des Trocknens ist das Einschliessen von frischen Objecten in Gummisyrup bei Ausübung eines entsprechenden Druckes auf das Deckglas, damit Faltungen und zum Theil auch die Schrumpfung vermieden werden. Diese einfache Methode wende man an, wenn man Pigmentzellen in ihren natürlichen Farben für spätere Untersuchung aufbewahren will; für diesen Zweck haben wir bisher keine bessere.

Bevor man zu dem eigentlichen Maceriren übergeht, versuche man zwei Verfahren, welche gewissermaassen den Uebergang von den vorigen Isolirungsmethoden zu den Macerationsmethoden bilden. Das erste besteht in den bereits angedeuteten mechanischen Proceduren, aber nach einer Fixirung, welche die zu isolirenden Elemente härtet und gegen mechanische Eingriffe widerstandsfähiger macht, die Kitt- und Bindesubstanzen (oder die interstitiale Grundsubstanz) dagegen nicht. Die beste solche Fixirung giebt der 50-70-proc. Alkohol und die Müller'sche Flüssigkeit. Durch eine solche Vorhärtung wird namentlich die Isolirung durch Zerzupfen (besonders von Muskelfasern) erleichtert. Das zweite Verfahren, welches man Halbmaceriren nennen könnte, ist ein vorzeitig unterbrochenes Maceriren in einem Medium, welches die Kitt- und Bindesubstanzen blos erst anquellen liess und die zu untersuchenden Elemente nicht spröde, obwohl resistent macht. Die besten Medien dieser Art sind der Glycerineisessig und mein Säuregemisch, welche beide, je nach dem Objecte, von einer halben Stunde bis zu 24 Stunden einwirken sollen. Ihnen folge zum Auswaschen, welches nicht besonders sorgfältig zu sein braucht, destillirtes Wasser und als Untersuchungsmedium verdünntes Glycerin (ebenso wie bei den zum Zerzupfen in Alkohol vorgehärteten Objecten, wogegen die Müller'sche Flüssigkeit selbst als Untersuchungs- und Einschlussmedium dienen kann). Halbmacerirte Objecte verwende man hauptsächlich für Quetschpräparate.

Das Maceriren geschehe in einem solchen Medium und so lange, dass das Schütteln in einem Probirröhrchen mit wenig Flüssigkeit, Antupfen des mit einer Pincette gefassten Gewebsstückes auf den Objectträger, Klopfen auf dem Deckglase, oder Auspinseln als mechanische Eingriffe zum Zerlegen in die gewünschten Elemente genügend seien: die Kitt- und Bindesubstanzen seien gelöst, die zu isolirenden Elemente dagegen gut ge-

härtet und zähe. Zur Isolirung der glatten Muskelfasern wähle man 20proc. Salpetersäure (24-48 Stunden, 24 Stunden in gewechseltem destillirten Wasser, welches die Lösung der Bindesubstanz vervollständigt), für Epithelien Drittelalkohol und Jodserum (namentlich für Schleimhäute), für Elemente des Nervensystems von Wirbelthieren sehr dünne Chromsäurelösungen, zum Herauslösen des Nervensystems von Wirbellosen (namentlich von Würmern), aus dem die peripherischen Verästelungen einschliessenden Gewebe, welche sich dann in concentrirtem Glycerin oft leicht vollständig wegpinseln lassen, mein Säuregemisch (48 Stunden, 24 Stunden 70proc. Alkohol ohne vorheriges Auswaschen, um eine Nachwirkung der Säuren in den Geweben nicht zu verhindern, 24 Stunden destillirtes Wasser, und dann anfangs dünnes, allmählich eindickendes Glycerin) u. s. w. Gewisse Organismen und Gewebe, beziehungsweise Zellarten erfordern noch andere Macerationsflüssigkeiten, welche hier nicht alle aufgezählt werden können. Gewöhnlich wird man jedoch mit einem der erwähnten 5 Medien auskommen.

Die durch Maceriren isolirten Elemente noch zu färben ist meist überflüssig, weil sie in dem verdünnten Glycerin, wo sie am häufigsten untersucht werden, so schon genug auffällig sind (Salpetersäurematerial erhält auch eine strohgelbe, Chromsäurematerial eine grünlichbraune Farbe durch die Macerirung selbst). Auf Grund von Lichtbrechungsunterschieden tritt auch ihre innere Structur deutlich hervor. Durch Zuthat von etwas Jodtinctur oder einer Spur Pikrinsäure zu dem Untersuchungsmedium wird übrigens ihre Sichtbarkeit in einfachster Weise gesteigert. Von den aufgezählten Mitteln kann man nur nach dem Drittelalkohol mit ganz gutem Erfolg zu den gewöhnlichen Tinctionsmethoden greifen, wenn man die Structurbestandtheile der mechanisch isolirten Elemente auf optischem Wege weiter isoliren will. (Stückfärbung nach bereits erfolgter Macerirung oder Nachfärben unter dem Deckglas.)

Während bei den bisher erörterten Isolirungsmethoden höchstens die Ausnützung des auf mechanischem Wege Erreichten durch das Färben erleichtert wird, ist bei den folgenden Methoden, welche für den analytischen Abschnitt der Bearbeitung des Materials noch übrig bleiben, die Isolirung auf färberischem Wege die Hauptsache, und die dabei noch nothwendigen mechanischen Isolirungen erleichtern blos die Ausnützung des auf färberischem Wege Erreichten.

Auf im Wesentlichen färberischem Wege suche man hauptsächlich zwei Dinge zu isoliren, nämlich die Hohlraumsysteme (insbesondere das Gefässsystem) seines Objectes und das ganze Nervensystem oder seine einzelnen Bestandtheile in den Centren und seine peripherische Endausbreitung in den verschiedenen Geweben.

Zum Isoliren der Hohlraumsysteme bediene man sich bei Wirbelthieren vorwiegend der künstlichen Injection mit einer gefärbten Masse, bei Wirbellosen vorwiegend der Auto-Injection.

Die künstliche Injection betreffe, wenn es die Dimensionen des Untersuchungsobjectes erlauben, den ganzen Organismus auf einmal. Wenn möglich, zerschneide man das injicirte Object zunächst nicht, sondern helle es in Nelkenöl in toto auf. (Schnitte mache man in diesem Fall blos wegen der Controlle, wenn man keine vollkommene Sicherheit über die Lageverhältnisse gewisser Hohlräume und einzelner Organe gewinnen konnte.) Nur wo keine Untersuchung mit der erwünschten Vergrösserung in toto möglich ist, entweder weil das Object zu dick ist und auch nicht schonend genug plattgedrückt werden kann, oder weil man es nicht durchsichtig genug zu machen weiss, verfertige man Schnitte. Kleinere Objecte kann man in diesem Fall nach der Injection im Stück färben, immer mit einem möglichst rein kernfärbenden Mittel, welches eine durchsichtige und in der Farbe mit der der Injectionsmasse contrastirende Tinction ergiebt. Wird zur Injection eine Carminmasse verwandt, so färbe man mit Hämalaun oder in diesem Fall noch besser mit meiner Hämateïnlösung Ia, wasche die überschüssige Farbe in destillirtem Wasser mit 1/2proc. Essigsäure möglichst lange aus, damit blos die Kerne gefärbt bleiben und lasse das Object schliesslich in oft gewechseltem, schwach alkalischem Wasser (Leitungswasser, welches etwas Kalk enthält) bis zu 24 Stunden liegen, damit die Tinction einen reinen stahlblauen Ton bekommt und keinen violetten Schimmer behält. Wurde dagegen eine Berlinerblau-Masse oder eine Russmasse (chinesische Tusche oder lithographische Tinte nach AIMÉ SCHNEIDER) benutzt, so färbe man in Boraxcarmin, welches die leuchtendste Tinction vom reinsten Roth unter allen Carminen gestattet. Das Object lasse man lieber lange in Boraxcarmin (bis mehrere Tage, denn ein eventuelles geringes Quellen kommt hier nicht in Betracht). Allerdings muss man es dann auch im öfters gewechselten Salzsäure-Alkohol (mit 1/4proc. Säure) längere Zeit, bis zweimal so lange wie im Carmin lassen. Die Tinction wird in dieser

Weise leuchtender roth, als nach kürzerem Verweilen im Farbstoff, und hatte man eine gute Carminsorte angewandt, so bleibt trotz des längeren Ausziehens gerade genug Farbe in den Kernen, um sie sehr auffällig zu machen. Schnitte von injicirten Objecten, welche zu gross sind, um in toto gefärbt zu werden, färbe man (immer auf dem Objectträger, wo sie leicht befestigt werden können, auch wenn man nicht eingebettet hatte) ebenfalls nur in den erwähnten Tinctionsmitteln nach.

Die Schnitte sind dünn genug, sobald sie eine sichere Orientirung über den Verlauf, die Lageverhältnisse und Verbindungen der injicirten Hohlräume gestatten. Dünnere Schnitte als von 15 μ haben hier meist keinen Sinn, dagegen sind solche von 50 μ oft nicht zu dick. Daraus folgt aber auch, dass die Objecte, wenn sie einer Einbettung überhaupt bedürftig sind, in Celloidin eingebettet werden sollen, falls nur ihre besonders geringe Permeabilität nicht Veranlassung zum Einbetten in Paraffin giebt. Die Consistenz, welche Organe mit etwas compacteren Geweben nach dem Härten so schon bekommen würden, wird durch die Injectionsmassen, die als Vehiculum des Farbstoffes Gelatine oder Celloidin enthalten, zu einer vorzüglichen Schnittfähigkeit gesteigert, nur muss man als gleichzeitiges Fixirungs- und Härtungsmedium nach Gelatinmassen Alkohol absolutus (oder 96proc. Alkohol), nach Celloidinmassen dagegen 85proc. Alkohol benutzen.

Die Injection geschehe bei Wirbelthieren entweder sofort nach dem Tod und Ausspülen der Gefässe mit normaler Kochsalzlösung, oder sogar noch während des Lebens, aber immer vor dem Coaguliren des Blutes; bei Wirbellosen wenn möglich ebenfalls noch vor dem eigentlichen Tod, aber nach gehöriger Betäubung (bei Landthieren durch Chloroform, bei Wasserthieren durch Cocaïn oder Chloralhydrat). Wirbelthiere injicire man mit Gelatinmassen warm, am besten mit der Fol'schen Carmin-, Gelatin- oder Berlinerblau-Gelatin-Masse; will man eine kaltflüssige Masse versuchen, so ist das Mayer'sche Berlinerblau am meisten anzurathen. Bei Wirbellosen wende man nur kaltflüssige Injectionsmassen an, in welchen das Vehiculum ein in starkem Alkohol erstarrendes Medium ist; eine solche, die den allermeisten Ansprüchen genügen wird und sehr leicht zu verschaffen ist, ist eine gute Lithographirtinte; für Objecte, welche in toto aufgehellt werden sollen, ist die erwähnte Berlinerblaulösung auch vorzüglich.

Bei erwachsenen Wirbelthieren ist es ziemlich gleichgültig, womit man injicirt (ob eine einfache Handspritze oder ein Apparat, wo eine Flüssigkeitssäule den zu regulirenden Druck liefert); bei Wirbelthierembryonen bediene man sich eines Glasrohres, dessen Ende zu einer feinen Canüle ausgezogen ist, und treibe die Injectionsmasse durch Blasen mit dem Mund (oder Drücken an einem Gummiball) in sein Object hinein; bei kleineren Wirbellosen wird eine möglichst kleine Pravaz'sche oder Charrière'sche Spritze mit einer feinen, spitzgeschliffenen Injectionsnadel als Canüle die besten Dienste leisten[1]. Nach dem Injiciren bringe man das Object sofort in den Alkohol. (Mehrfache Injectionen, bei welchen die verschiedenen Hohlraumsysteme in demselben Thier mit verschieden gefärbten Massen gefüllt sind, lasse der Anfänger lieber bleiben.)

Wie erwähnt, haben die Autoinjectionen bei den meisten Wirbellosen, besonders von geringeren Dimensionen, einen weit grösseren wissenschaftlichen Werth als die künstlichen. (Bei sehr vielen Wirbellosen kann man den Blutkreislauf, auch wenn sie stark plattgedrückt werden müssen, um etwas stärkere Vergrösserungen zuzulassen, während des Lebens bis in alle Einzelheiten verfolgen.) Bei kleinen Thieren kann man sogar die minder gefüllten Hohlräume mit offenem Lumen erhalten, wenn man das Object mit einem Mittel fixirt, welches rasch eindringt und die Gewebe, also auch die Gefässwände sofort zum Erstarren bringt, z. B. mit Sublimat-Osmium-Eisessig (Osmium schwärzt das Blut besonders stark), mit heissem Sublimatalkohol, Eisenperchlorid oder absolutem Alkohol — letztere beide blos bei ganz kleinen Objecten mit vollkommenem Erfolg. Nachbehandlung mit Eisenperchloridlösung des anderswie fixirten Objectes giebt dem Inhalt der Gefässe bei der Tinction oft eine besonders auffallende Färbung. Zum Nachfärben von Schnitten nehme man meine Hämateïnlösung I, Hämatein-Kalibichromicum oder Goldchlorid-Ameisensäure, nach welchen der Inhalt der Blutgefässe in ganz genügender Weise hervortritt.

---

[1]) Wo ein Hauptgefäss leicht bloszulegen und die Canüle in dasselbe einzubinden ist, versuche man die Injection in dieser Weise. Leider wird die Injectionsmasse an der Schnittwunde, welche man machen musste, um das Gefäss bloszulegen, sehr oft herausfliessen, bevor das ganze Object vollkommen injicirt ist. Bei kleineren Thieren muss man sich überhaupt meist auf vorher zu erwerbende topographisch-anatomische Kenntnisse verlassen und direct in den Körper hineinstechen, um die Canüle in das Hauptgefäss führen zu können. (Verhältnissmässig leicht gelingt dieses bei Arthropoden.)

Haben die Objecte die Gestalt eines Wurmes, so drücke man einen Theil des Körpers während des Lebens vorsichtig zusammen, damit sich möglichst viel Blut und Lymphe in dem nicht zusammengedrückten Theil ansammle, und so beim raschen Fixiren auch die allerdünnsten Gefässe und Lymphspalten prall gefüllt bleiben, wodurch sie natürlich viel leichter verfolgbar werden. Diese künstlich verstärkte Autoinjection ist eine der wichtigsten Methoden für die Untersuchung des Blutgefässsystems vieler Würmer.

Die durch Injection auf färberischem Wege bereits isolirten Hohlraumsysteme eines Körpers kann man von den umliegenden Geweben auch thatsächlich isoliren, indem man mit einer fest erstarrenden Masse (z. B. einer der Celloidinmassen von SCHIEFFERDECKER) injicirt, welche der Einwirkung von Reagentien, die das übrige Gewebe zerstören, wiedersteht. Nach Fortspülen des zerstörten Gewebes kann man die betreffenden Hohlraumsysteme, d. h. deren Ausguss für sich erhalten. Solche Corrosionspräparate, welche für Demonstrationen der makroskopischen Anatomie sehr wichtig sind, sind nur ausnahmsweise (Corrosionsmethode nach Einführung von Fett nach ALTMANN [6]) ein Gegenstand mikroskopischer Untersuchung, denn bei Objecten, welche dem Mikroskop überhaupt zugänglich sind, kann man durch das Aufhellen des zwischenliegenden Gewebes und starke Beleuchtung des mikroskopischen Bildes denselben Effect, wie durch ein thatsächliches Entfernen erzielen; ferner kann man so die natürlichen Lageverhältnisse des Hohlraumsystemes besser sichern und auch seine Beziehungen zu den übrigen Theilen erkennen, sobald man durch in geeigneter Weise abgeschwächte Beleuchtung auch diese sichtbar macht.

Zur optischen Isolirung des Nervensystemes inmitten der übrigen Gewebe und von einzelnen Structurbestandtheilen des Nerven- und Gangliengewebes inmitten der übrigen, welche im mikroskopischen Bilde zurücktreten oder davon nach Belieben auch ganz eliminirt werden sollen, versuche man vier Methoden: vor allem die Methylenblaumethode, weiter die Goldchloridbehandlung des frischen Gewebes, dann die Schwarzfärbung durch Chromsilber und schliesslich, wenn das Untersuchungsobject dazu geeignet ist, die Markfärbung durch Hämateïn-Chrom-Kupfersalz.

Von den vieren ist die Methylenblaumethode am leichtesten auszuführen und am allgemeinsten anzuwenden. Man unterlasse die Methode des Injicirens der Methylenblaulösung in den Körper des sonst unversehrten Untersuchungsobjectes und

lege lieber (unter normaler Kochsalzlösung präparirend, falls die eigenen Körpersäfte des Objectes nicht genügen, um die Theile vor dem Trockenwerden zu schützen) das Nervensystem oder das Organ, dessen Nerven untersucht werden sollen, bloss oder breite den aufgeschnittenen Körper wenigstens aus und übergiesse sie mit einer 1promilligen Lösung vom chemisch reinen, chlorzinkfreien, medicinischen Methylenblau MERCK's in normaler Kochsalzlösung. Vorher ist es aber rathsam, dem Methylenblau den Weg in die Nerven, beziehungsweise zu den Ganglienzellen und den innervirten Zellen zu öffnen oder wenigstens zu verkürzen, was dadurch geschieht, dass man gewisse Nerven an geeigneten Stellen durchschneidet. Nach Auswaschen in normaler Kochsalzlösung fixire man die erhaltene Färbung in meiner Ammoniumcarbonat-Ammoniumpikrat-Lösung und schliesse das auf dem Objectträger zurechtgelegte oder ausgebreitete Präparat in Gummisyrup ein. Schnitte von den fertig tingirten Organen oder Membranen, Gewebsstücken etc., erhält man, da sich Methylenblaupräparate ohne Verlust der Tinction weder in Celloidin, noch in Paraffin einbetten oder überhaupt auch nur nachhärten lassen und uneingebettet blos nach Ausfrieren schnittfähig werden, in der einfachsten Weise so, dass man sie in Glyceringelatine zwischen zwei Stücken von trockenem Glycerincelloidin einbettet und trocken scheidet, die Schnitte mit Gummisyrup aufklebt und in demselben einschliesst. Die so erreichbare Schnittdicke, beinahe immer 20 μ, manchmal auch weniger, genügt, um die an Flächenpräparaten gewonnenen Resultate zu controlliren. Aus dem Centralnervensystem von Wirbelthieren mache man mit dem Gefriermikrotom Schnitte, welche so dick sein können, dass sie beim Weiterbehandeln nicht auseinanderfallen, und tingire erst diese in der oben angedeuteten Weise.

Von viel weniger constantem Gelingen und weit beschränkterer Anwendbarkeit ist die Goldchloridbehandlung von frischen Geweben (im Gegensatz zur Goldchlorid-Ameisensäurebehandlung der aufgeklebten Schnitte nach Sublimatfixirungen). Sie leistet eigentlich nur für das Studium der peripherischen Nervenendigungen (insbesondere der quergestreiften Muskelfasern) und der Nervenvertheilung in membranartig ausbreitbaren Organen oder Geweben mehr, als andere Methoden, die wenigstens sicher sind. Nach meiner Erfahrung hat man am meisten Aussicht auf Erfolg und Haltbarkeit der Präparate (welche dann ganz unbeschränkt zu sein scheint), wenn man nach der Methode verfährt, deren einzelne

Schritte die folgenden sind: Lockern der Gewebe in 10proc. Ameisensäurelösung (2-8 Stunden, je nach den Umständen); Auswaschen der Säure in oft erneutem (wenn möglich fliessendem) destillirtem Wasser; Einlegen in eine 1proc. Lösung von Aurum chloratum fuscum (1/2 bis 2 Stunden); Aufhängen in einer 1proc. Ameisensäurelösung (eventuell hohe Lage auf der Objectbrücke) ohne vorheriges Auswaschen des Goldsalzes im diffusen Tageslichte (je nach der Helligkeit und Dauer des Tages und je nach der Temperatur, 6 bis 24 Stunden); Einlegen in 10proc. Ameisensäurelösung im Dunkeln (bis das Gewebe recht durchscheinend geworden ist oder sich durch vorsichtiges Drücken in eine dünne Lage ausbreiten lässt); Einlegen in ein offenes, blos vor dem Staub geschütztes Gefäss mit 50proc. Glycerin und Stehenlassen am Licht (nicht directem Sonnenlicht), bis das Glycerin, nach Verdunsten des Wassers und der Ameisensäure, vollkommen eingedickt ist; Einschluss in demselben concentrirten Glycerin und Umranden mit dicker Siegellacklösung in Alcohol absolutus (die allerfeinste Sorte Siegellack ist eine Bedingung der Zuverlässigkeit des Rahmens). So oder ähnlich verfertigte Goldpräparate in Schnitte zu zerlegen hat nur in ganz besonderen Fällen einen Sinn; sie eignen sich wenig zum Schneiden, schrumpfen beim Härten und Einbetten sehr leicht, und was sie an Schnitten im besten Falle zeigen könnten, sieht man an den tadellosesten Schnittreihen nach meiner Goldchloridmethode viel besser.

Während die zwei vorhergehenden Methoden zur optischen Isolirung des Nervensystemes ganz frisches oder wenigstens unfixirtes Material verlangen und ein Zerlegen in Schnitte bei ihnen nicht nothwendig ist, bedürfen die folgenden zwei Methoden einer vorhergehenden Fixirung und Härtung des Objectes in Kalibichromicum oder Müller'scher Flüssigkeit, und das Object muss in Schnitte zerlegt werden, welche allerdings ziemlich dick sein können. Dünn dürfen sie nicht einmal sein, wenigstens in den meisten Fällen, besonders bei der Golgi'schen Chromsilber- oder Schwarzfärbungsmethode. Beide sind, sowohl diese, als auch die Weigert'sche oder Markfärbungsmethode durch Hämateïnlack blos Methoden mikrotopographischer Untersuchung. Histologische Feinheiten enthüllen sie unserem Auge nicht, solche verlange der Anfänger nur von gelungenen Methylenblau- und Goldchloridpräparaten.

In Goldchloridpräparaten tritt das Nervöse nicht eigentlich isolirt, sondern mehr oder weniger scharf differenzirt auf; es tritt

den übrigen Bestandtheilen des Objectes gegenüber blos stark in den Vordergrund, denn jene sind in der Regel auch mitgefärbt. Viel weniger sind sie es schon in den Hämateïnlack-Markpräparaten und in einer Farbe, welche von der der Markscheiden sehr absticht; gefärbt sind sie aber immer. Noch weniger, nahezu gar nicht, in der Regel wenigstens, in den Chromsilberpräparaten; gelegentlich sind aber hier auch nicht nervöse Bestandtheile mitgefärbt, und zwar in einer Weise, dass Nervöses und nicht Nervöses oft schwer auseinanderzuhalten ist, zumal da die feinere Structur, auf deren Grund eine sichere Unterscheidung immer möglich ist, verdeckt wird. Die vollkommenste Isolirung des Nervösen geben die Methylenblaupräparate, in welchen das Zwischengewebe vom Methylenblau gar nicht tingirt zu sein braucht und blos vom fixirenden Ammoniumpikrat einen reinen, ganz durchsichtigen gelben Ton bekommt, so dass es bei voller Beleuchtung mit dem Abbe'schen Apparat von grosser Apertur aus dem mikroskopischen Bilde gänzlich verschwindet, durch Modification der Beleuchtung (Senken des Abbe'schen Apparates oder Zuziehen der Irisblende oder Entfernen des Apparates und Einlegen einer engeren Blende) aber wieder hervorgerufen werden kann. Auch hier werden oft Bestandtheile des Zwischengewebes von anderer Natur als die nervösen isolirt mitgefärbt, sie erhalten aber meist einen ganz anderen Farbenton, und wo dieses auch nicht der Fall ist, sind sie doch auf Grund ihrer feineren Beschaffenheit, welche in gelungenen Präparaten scharf zu Tage tritt, leicht auseinanderzuhalten.

Die optische Isolirung durch Methylenblau und Chromsilber geht auch in einer anderen Hinsicht weiter, als die durch Goldchlorid und Hämateïnlack. Die ersteren zwei färben nämlich nicht sämmtliche nervösen Bestandtheile des Nerven- und Gangliengewebes, z. B. im Centralnervensystem, sondern blos einzelne in bald grösserer, bald geringerer Anzahl; diese sind aber umso besser zu beobachten, ihre Form, ihr Verlauf und ihre Verbindungen umso leichter zu verfolgen. Und deshalb ist die sichere und leichtere von ihnen beiden, die Methylenblaufärbung, vor Allem zu empfehlen.

Die Chromsilbermethode hat eine viel grössere Anwendbarkeit, als die Hämatoxylin-Chrom-Kupferlack-Methode, welche sich blos für das Centralnervensystem von Wirbelthieren lohnt. Dafür gelingt aber die erstere, welche sowohl für das centrale, als auch für das peripherische Nervensystem von Wirbelthieren und Wirbellosen lehrreiche Präparate liefern kann, unvergleichlich weniger zuverlässig. Dem Anfänger würde ich höchstens das sogenannte rasche

Verfahren von Golgi und zwar in der ursprünglichen Form des Autors empfehlen, nur rathe ich ihm, die aus dem Kali-bichromicum-Osmiumgemisch genommenen Stücke vor dem Einlegen in die Silbersalzlösung mit Glyceringelatine in dünner Lage umzugeben, damit die lästigen Niederschläge an der Oberfläche des Objectes vermieden werden. Auch zum Einbetten benutze man entweder dieselbe Gelatinhülle, welche sich in der Silbersalzlösung gut erhält (nur etwas geringere Schnittfähigkeit als sonst im Alkohol absolutus erlangt), und dann erfolge schon das Auswaschen des Salzes in starkem (96proc.) Alkohol; oder man umgebe das in Wasser rasch ausgewaschene Object mit einer neuen Gelatinhülle (man erlaube der Gelatine, welche man eine Zeit lang warm hält, ein etwas tieferes Eindringen) und verfahre weiter nach meiner Glyceringelatin-Einbettungsmethode. Sind Form und Beschaffenheit des Objectes dazu geeignet (besonders wenn es eine ausbreitbare Membran ist), so folge man auch hier den oben für das Einbetten von Methylenblauobjecten gegebenen Rathschlägen, schneide trocken und schliesse in Gummisyrup ein (mit den für den Einschluss der Golgi-Präparate überhaupt gültigen Vorsichtsmassregeln).

Die noch übrig gebliebene vierte Methode, die der Isolirung der Nervenfasern durch Färbung des Markes, führe man ganz nach den älteren Vorschriften von Weigert selbst ([2] 1885) aus. Schnittserien aus dem bereits in Celloidin eingebetteten Object mache man dagegen nach meiner Bergamottölmethode (hier ebensogut auch mit Carbol-Xylol an Stelle des Bergamottöls), indem man die Schnitte von der Oelfläche der Reihe nach direct auf den mit einer dünnen Celloidinschichte überzogenen und getrockneten Objectträger zieht. Das leichte Anpressen der fertig geordneten Schnittreihe mit dem satinirten Löschpapier und das Bad von Aetheralkohol-Dämpfen lassen die Schnitte bei den weiteren Proceduren vollkommen sicher haften. Besonders hier, wo die Schnitte gross und dick (20-25 μ) sind, arbeitet man nach meiner Methode viel rascher und leichter, als nach der Weigert'schen.

Bei der Golgi'schen und Weigert'schen Methode muss das Gesammtbild des Nervensystems aus den einzelnen Schnittbildern reconstruirt werden, und somit führen uns diese Methoden zu dem dritten Abschnitt der mikrotechnischen Bearbeitung eines Untersuchungsmaterials über, nämlich zur Verfertigung von Präparaten, welche der mikrographischen Synthese dienen.

Die hauptsächlichste, man könnte sagen, einzige Methode dieser Synthese ist, von dem Object in den Hauptrichtungen je eine lückenlose Reihe von gleich dicken Schnitten zu machen, in diesen auf färberischem Wege womöglich sämmtliche Structurbestandtheile zu differenziren und dann auf Grund von sehr genauen Abbildungen, welche man entweder mit dem Zeichenapparat entworfen oder photographisch hergestellt hat, das Object wieder zu reconstruiren.

Wir gebrauchen hier absichtlich den Ausdruck Differenziren im Gegensatz zum Isoliren. In der vorliegenden Phase der Bearbeitung seines Materials trachte man danach, das mikroskopische Bild vollständig zu differenziren, indem man sämmtliche Structurbestandtheile zu färben, den verschiedenartigen aber verschiedene Farben, Farbentöne oder wenigstens Intensitäten der Färbung zu verleihen, die structurlosen Grundsubstanzen aber farblos zu halten oder mit einer blassen Contrastfarbe zu färben sucht. Beim optischen Isoliren hingegen ist es, wie bereits wiederholt erwähnt wurde, unser Bestreben, nur ein gewisses Gewebselement oder einen gewissen Structurbestandtheil durch exclusive Färbung im mikroskopischen Bild zu erhalten und die übrigen dort auszulöschen. So ist eine wirklich reine Kernfärbung nichts weiter als die optische Isolirung der chromatischen Kernbestandtheile. Natürlich kann man in demselben Bild auch verschiedene Bestandtheile isoliren, indem man ihnen verschiedene, miteinander womöglich contrastirende Farben verleiht. Je mehrerlei man aber in demselben Bild isoliren will, umsomehr nähert es sich dem differenzirten mikroskopischen Bilde und umsoweniger erfüllt es die eigentlichen Zwecke der Isolirung [1].

Viele Probleme der Histologie und insbesondere der Cytologie können nur dadurch gelöst werden, dass man die fraglichen Bestandtheile in mehr oder weniger dünnen, gelegentlich den allerdünnsten Schnitten (unter 1 μ Dicke) färberisch isolirt. Das sind aber Special-Unter-

---

[1]) Wir unterscheiden (s. p. 32) überhaupt drei Arten von mikroskopischer Färbung in Bezug auf das mikroskopische Bild, welches sie liefern, nämlich die isolirende Färbung, die differenzirende und die diffuse. Diffus ist die Färbung, wenn die Structurbestandtheile in einer und derselben Farbe, mit derselben Intensität erscheinen, und dabei auch die structurlose Grundsubstanz (in den Zellen selbst der Zellsaft, das Leydig'sche Hyaloplasma) in derselben Weise mitgefärbt ist. So ist z. B. die unmittelbare Färbung, welche den Geweben das Safranin verleiht, welche jedoch durch Ausziehen zu einer mehr oder weniger differenzirten, dann zu einer isolirenden Kern- und schliesslich Kernkörperchen-Färbung verwandelt werden kann. Näheres über diese Begriffe folgt im XII. Abschnitt.

suchungen, welche ganz andere Färbungsmethoden, als welche in der mikrographischen Synthese am sichersten zum Ziele führen, erfordern und ausserdem, was ebenso wichtig ist, oft ganz besondere Fixirungen. Letztere können eine ganze Menge von Substanzen aus dem Object thatsächlich entfernen und Structuren, welche die Untersuchung nicht interessiren, deformiren oder auch ganz zerstören, wenn nur die Bestandtheile und Structuren, auf welche es gerade ankommt, umso schärfer hervortreten und ihr Bild von anderen optischen Erscheinungen umso weniger beeinflusst wird. Es ist aber nicht unsere Absicht, hier von den Methoden solcher Untersuchungen zu sprechen. Gegenwärtig wollen wir dem Anfänger blos noch einige Vorschläge machen, wie er mikroskopische Präparate, welche den Anforderungen der mikrographischen Synthese nach unserer Meinung am meisten entsprechen, herstelle.

In Betreff dessen, ob er sein Object ganz zu einer lückenlosen Schnittreihe aufarbeiten oder aber sich auf gewisse Theile desselben beschränken kann und wie die Richtung der Schnitte sei, gelten auch hier dieselben Principien, welche für die Bearbeitung eines spärlichen Materials (auf Seite 144, 145 und 154, 155) mitgetheilt wurden.

Was die Fixirung und die optische Differenzirung anbelangt, so schlagen wir zwei Verfahren vor. Die eine wollen wir kurz Methode I der Synthese, die andere Methode II der Synthese nennen.

Methode I der Synthese eignet sich blos für kleine Objecte und auch für diese nur, wenn sie keine besonders schwer durchdringlichen Hüllen besitzen, z. B. einen Chitinpanzer, eine kalkige oder chitinige Embryonalhaut u. s. w. Sobald irgend ein Punkt im Inneren des Objectes weiter als höchstens 1 mm von der nächsten, dem Fixirungsmedium unmittelbar zugänglichen Stelle der Oberfläche entfernt ist, ist es für Methode I nicht mehr, wohl aber für Methode II geeignet. Die einzelnen Schritte des Verfahrens sind folgende: Einlegen in meinen Sublimat-Osmium-Eisessig A auf 10 Minuten am Lichte, bei mittlerer Stellung in der Flüssigkeitssäule auf der Objectbrücke. (Auch auf der Brücke kann die Lage des Objectes, wenn es ohne dessen Beschädigung geht, einigemal gewechselt werden.) Uebertragen mit der Objectbrücke in Sublimat-Eisessig C auf 1 Stunde am Licht; hohe Stellung. Uebertragen in Sublimatwasser A[1] auf 24 Stunden; mittlere Stellung. Stärkster

[1]) Die genauen Angaben darüber, was wir unter diesen und ähnlichen anderen, kurzen Bezeichnungen verstehen, wird man mit Hilfe des Registers leicht im speciellen Theil dieses Buches auffinden können.

Alkohol[1] (Alcohol absolutus oder 96proc. Alkohol), höchste Stellung, ebenso wie in den zwei folgenden Medien. Jodalkohol. Reiner Alcohol absolutus (oder 90proc. Alkohol, wenn das Object aufgehoben und später weiterbehandelt werden soll; hier aber tiefe Stellung). Cedernholzölchloroform (Senkverfahren mit Anwendung der Objectbrücke combinirt) oder Aether-Alkohol, je nachdem man in Paraffin oder Celloidin einbetten will. Einbetten. Festkleben der Paraffinschnitte auf dem Objectträger mit destillirtem Wasser durch Capillarattraction, oder, falls man eilt, mit Eiweisswasser. Färben nach Fertigschneiden der ganzen Serie in Hämalaun oder besser in Hämateïnlösung I (5 Minuten bis eine halbe Stunde). Kalkhaltiges Wasser, z. B. Brunnen- oder Leitungswasser, nach dem Abspülen in destillirtem Wasser, eine Viertelstunde, damit der Farbenton der Kerne rein blau, eher stahlblau, und nicht violett sei. Zuerst färbe man einen Objectträger voll Schnitte fertig, montire das Präparat in Chloroformbalsam und untersuche es. Ist die Färbung intensiv genug, dass die Zellcontouren, nicht blos die der Kerne, und auch feinere Zellfortsätze bei voller Beleuchtung mit dem Abbe'schen Apparat, d. h. ohne Blende (bei einer Vergrösserung von 250-500 Mal) ganz scharf hervortreten, so lasse man auch die übrigen Objectträger dieselbe Zeit in der Farblösung, anderenfalls aber länger. (Auch das erste Präparat kann, wenn nöthig, weiter gefärbt werden, man muss es nur in Chloroform zurückstellen und warten, bis das Deckglas von selbst von den Schnitten heruntergleitet.)

Bei Methode I kann man ebenso gut auch im Stück färben, und zwar entweder in saurem Hämalaun oder in meiner Hämateïnlösung Ia. 12 Stunden genügen meist, 24 Stunden sind nie zu lange zum Durchfärben. (Mittlere Stellung in der Farblösung auf der Objectbrücke.) Auswaschen zuerst mindestens 6 Stunden lang in mehrmals erneutem destillirtem Wasser bei hoher Stellung auf der Objectbrücke. Weiterwaschen ebenso in kalkhaltigem Wasser ebenfalls 6 Stunden.

Mit Methode I wird der Anfänger in der geschilderten Weise immer brauchbare, oft ganz ausgezeichnete Resultate erhalten; in manchen Fällen ist jedoch das beste Resultat erst durch gewisse Mo-

---

[1]) Ausser „stärkster Alkohol" (96proc. bis absoluter) gebrauchen wir noch die Ausdrücke „starker Alkohol" (80-95proc.), „halbstarker Alkohol" (50-80-proc.), „schwacher Alkohol" (30-50proc.) und „Alkoholwasser" (bis 30proc. Alkohol) in der zwischen den Klammern hier angegebenen Bedeutung.

dificationen der Methode zu erreichen. Diese werden wir an anderem Orte aufzählen, nur eine wollen wir schon hier erwähnen. Wir nennen sie Methode Ia der Synthese. Bei dieser tritt überall kaltgesättigte wässerige Pikrinsäurelösung an die Stelle der Sublimatlösungen. Der Jodalkohol bleibt natürlich weg. Anstatt dessen wird der stärkste Alkohol um ein Mal mehr gewechselt. Auch kann die Einwirkung des Pikrin-Osmium-Eisessigs bis auf 2 Stunden verlängert werden. (Oft mit Vortheil sogar auf 24 Stunden. Dann bleiben natürlich die weiteren Stufen der Behandlung [Pikrinessigsäure, reine Pikrinsäure] bis zum stärksten Alkohol weg, wohin das Object unmittelbar aus der Fixirungsflüssigkeit übertragen wird.) Sonst ist das Verfahren wie bei Methode I. Es eignet sich ganz besonders für Embryonen, deren Zellen viele Dotterkörnchen enthalten, die sich möglichst wenig schwärzen sollen, und für solche, welche, noch auf dem Dotter ausgebreitet, von diesem abpräparirt werden müssen und deshalb auch uneingebettet nicht brüchig sein dürfen.

Methode II der Synthese und deren Variationen, Methode IIa, IIb und IIc schlage ich für Objecte vor, welche wegen ihrer Grösse oder Impermeabilität nicht nach Methode I behandelt werden können. Geeignet sind sie natürlich auch für die Objecte, für welche Methode I vorgeschlagen wurde; nur Methode IIc sollte man blos dort, wo sie speciell indicirt ist, anwenden.

Methode II selbst eignet sich für alle Objecte, welche dem Eindringen des Fixirungsmediums keine besondere Hindernisse durch grosse Impermeabilität in den Weg setzen und so keine künstliche Steigerung von dessen Eindringungsfähigkeit erfordern: in gewissen Fällen wird jedoch bei solchen Objecten durch Methode IIa, beziehungsweise Methode IIb das beste Resultat erhalten. Methode II besteht in einer Fixirung in Sublimatalkohol (24 Stunden, viel Fixirungsmedium, mindestens das 20fache Quantum vom Gewicht des Objectes, mittlere Stellung des Objectes in der Flüssigkeitssäule auf der Objectbrücke), unmittelbarem Uebertragen in stärksten Alkohol u. s. w., wie bei Methode I bis zum Färben der aufgeklebten Serie, mit dem Unterschiede indessen, dass man hier, wenn man auch die leitenden Primitivfibrillen scharf differenziren will, anstatt Cedernholzölchloroform Aether-Chloroform gebrauchen muss. Das Färben geschehe nach meiner Goldchlorid-Ameisensäure-Methode. Dann färbe man einige Minuten lang in Hämalaun oder Hämateïnlösung I nach, und zwar so, wie bei Methode I, um den Kernen eine reine stahlblaue Farbe ohne einen Stich in Violett zu verleihen.

Methode IIa (von derselben Indication und deshalb blos dort anzuwenden, wo Methode II keine guten Resultate gab) unterscheidet sich von Methode II blos darin, dass anstatt Sublimatalkohol eine kaltgesättigte wässerige Pikrinsäurelösung mit $^1/_2\,^0/_0$ Kochsalz (oder bei Seethieren mehr) genommen wird, und in Folge dessen auch die Behandlung mit Jodalkohol unterbleibt, dagegen wird im gewechselten stärksten Alkohol doppelt so lange ausgewaschen. (Die leitenden Primitivfibrillen werden bei dieser Methode nicht so gut, wie bei der vorhergehenden, differenzirt.)

Methode IIb, bestimmt besonders für sehr wasserreiche, gallertige Objecte, z. B. pelagische Seethiere, und auch für Wirbelthierembryonen, wendet als Fixirungsmedium Pikrinsublimat an (welches gelegentlich 2- bis 4fach mit $^1/_2$-3proc. Kochsalzlösung verdünnt oder zu gleichen Theilen mit einer 10proc. Essigsäurelösung gemischt wird), sonst gestaltet sie sich ganz wie Methode II. (Die Pikrinsäure vor dem Einbetten vollkommen zu entfernen, ist hier ebenso wie überall, wo sie beim Fixiren eine Rolle spielt, eine überflüssige Alkoholverschwendung. Es schadet gar nichts, wenn das Object noch gelb eingebettet wird.)

Methode IIc ist bei der mikrographischen Synthese, wie erwähnt, blos in gewissen Fällen, namentlich durch eine grosse Impermeabilität des Objectes, sei es des ganzen oder von gewissen Theilen desselben, indicirt. Die Eindringungsfähigkeit des Fixirungsmediums wird dadurch erhöht, dass es bis zum Sieden erwärmt wird, und damit keine Zelle des Objectes blos durch die Hitze fixirt werde, lässt man eine relativ grosse Menge von Eisessig (mindestens $20\,^0/_0$) in die Zusammensetzung des Fixirungsmediums eingehen. Dieses soll nun in Sublimatalkohol-Eisessig A bestehen. — Man werfe das, wenn möglich, lebende Object in ein kleineres Quantum des siedenden Sublimatalkohol-Eisessigs. Nach einer Minute (das Sieden kann bereits aufgehört haben) schüttet man das gebrauchte Quantum von Sublimatalkokol-Eisessig mit dem Object in ein 10-20faches (gelegentlich blos 2-4faches) Quantum von nahezu siedendem Sublimatalkohol. Das Object lässt man in der erkaltenden Mischung stehen, jedoch nicht über eine Stunde. Dann kommt es auf 24 Stunden in kalten Sublimatalkohol (ohne Eisessig). Von hier direct in stärksten Alkohol. Die weitere Behandlung sei ganz wie bei Methode II. Sehr oft genügt es indessen bei Objecten, welche kalter Sublimatalkohol nicht gehörig durchfixiren kann, diesen erst sieden und mit dem hineingelegten Object erkalten (nicht weiter sieden!) lassen.

Die folgenden Bemerkungen über Einbettung, Schneiden, Re-

construction etc. gelten für alle Objecte, nach welcher Methode sie auch vorher behandelt waren, nur die für die Zwecke der graphischen Reconstruction vorzuschlagenden Massregeln beziehen sich blos auf Objecte, welche klein genug sind, um auf graphischem Wege mit dem Mikroskop überhaupt reconstruirt werden zu können.

Für die mikrographische Synthese bette man alles, was sich mit Celloidin vollkommen durchtränken lässt, in Celloidin ein. Da aber dieses oft auch dann nicht der Fall ist, wenn man das Object nach vorheriger provisorischer Einbettung in Celloidin in Scheiben geschnitten (oder blos angeschnitten) hat und dann die Stücke nochmals einbettet, wird man vielfach genöthigt sein, in Paraffin einzubetten. Objecte, welche sich mit einer 4-6proc. Celloidinlösung nicht mehr vollkommen, also nicht blos interstitiell, sondern, für die meisten Zellen wenigstens, auch intracellulär durchdringen lassen, und deshalb zum Einbetten in Celloidin allein nicht geeignet sind, andererseits aber in Paraffin so hart werden, dass sie wegen ihres grossen Widerstandes gegen das schneidende Messer von diesem in das weniger widerstehende Paraffin hereingedrückt oder aus demselben sogar herausgebrochen werden, müssen doppelt, in Celloidin und Paraffin eingebettet werden, und zwar entweder nach dem von mir so genannten kürzeren Verfahren, oder nach dem längeren. In Glyceringelatine bette man solche Objecte ein, welche eine sehr massenhafte interstitiale Grundgallerte besitzen, oder wenn es auf die Erhaltung dieser besonders ankommt.

Die Schnittdicke, mit welcher man die für die Synthese bestimmte Serie macht, und welche am besten vom Anfang bis zum Ende dieselbe bleibt, wechselt je nach der Grösse und Dichtigkeit der geformten Elemente, die das Object zusammensetzen. Nie soll sie indessen geringer sein, als es gerade nothwendig ist. Für Objecte mit grossen Elementen, oder auch mit kleineren, aber wenig dicht gelagerten, kann die richtige Schnittdicke 15 μ sein, wogegen für ein anderes Object mit kleinen und dicht gelagerten Elementen eventuell nicht einmal Schnitte von 5 μ hinreichend dünn sind. Als die am häufigsten richtige Schnittdicke für Paraffinobjecte glauben wir jedoch die von 7 ½ μ (oder 7 μ, wenn man aber eine graphische Reconstruction vornehmen will, lieber nicht unter 15 oder 20 μ) bezeichnen zu können; für Celloidinobjecte ist sie caeteris paribus 10 μ, für Objecte, welche ein Einbetten in Glyceringelatine unvermeidlich machen, 15 μ. Dagegen ist es von Objecten, welche doppelt in Celloidin und Paraffin

eingebettet werden mussten, richtiger und meist auch leichter, Schnitte von 5 μ zu machen. Dünnere Schnitte verlangt die mikrographische Synthese nur ganz ausnahmsweise, aber sehr oft die mikrographische Analyse zur Lösung vieler histologischer Probleme, für welche, wie gesagt, gelegentlich auch Schnitte unter 1 μ nothwendig sind.

Was das Schneiden selbst, zunächst von Paraffinobjecten, betrifft, so stelle man das Messer in der Regel so längs wie nur möglich, d. h. nahezu parallel mit der Schlittenbahn, falls der Zustand der Messerschneide die Anwendung eines so grossen Theiles davon auf einmal erlaubt. Auch ziehe man den Schlitten so langsam und gleichmässig, dass die Seitenlängen des Schnittes und die Winkel, welche diese bilden, beinahe so ausfallen, wie die der Schnittfläche[1]. Ganz so werden sie nur dann ausfallen, und der Schnitt wird die am Block zurückbleibende Schnittfläche nur dann vollkommen decken, wenn man die letztere vor jedem Schnitt lege artis mit einer 1proc. Celloidinlösung bestreicht. Hat das Object eingebettet beinahe dieselbe Consistenz wie das Paraffin und besteht es nicht aus mehrerlei specifisch differenzirten und deshalb verschieden hart gewordenen Geweben, so kann es, vorausgesetzt, dass das Messer sehr gut ist, auch mit dem Quermesser in Bänder geschnitten werden. Sobald aber eine merkliche Zusammendrückung durch das Messer erfolgt, und Schnitt und Schnittfläche nicht congruent bleiben, eignen sich die Schnittbänder für die mikrographische Synthese nicht, wenn sie auch für eine allgemeine Orientirung noch ganz brauchbar wären. (Wo das Schneiden mit dem Quermesser und in Bänder überhaupt angezeigt ist, ist ein Rocking-Mikrotom dem Schlittenmikrotom entschieden vorzuziehen. Da man aber mit dem Rocking blos gewisse Gegenstände, wenn auch besser, schneiden kann, mit dem Schlittenmikrotom dagegen Alles, wenn auch gewisse Gegenstände weniger gut, so ist jemandem, der sich nicht zwei Mikrotome verschaffen kann, das Schlittenmikrotom viel mehr zu empfehlen.) Bei dem Schneiden mit dem Quermesser ist hier ganz besonders darauf zu achten, dass man jeden Schnitt mit derselben Geschwindigkeit schneidet, damit, wenn auch ein gewisses Zusammendrücken des vor oder auch hinter dem Object befindlichen Paraffins erfolgt, dieses wenig-

---

2) Wenn das Messer trotz dieser Vorsichtsmassregeln und bei einer Schnittdicke von 7½ μ eine auffällige Verzerrung des Schnittes verursacht, und an der Schnittfläche stärkere Rillen entstehen, so ist es nicht scharf genug und in diesem Zustande für Zwecke der mikrographischen Synthese unbrauchbar.

stens bei jedem Schnitt gleich gross sei. So vermeidet man die für die graphische Reconstruction des Objectes sehr bedeutende Fehlerquelle noch am ehesten. Die zur Reconstruction dienenden Schnitte dürfen heutzutage nur noch mit destillirtem Wasser (durch Capillarattraction) oder mit Eiweisswasser auf dem Objectträger befestigt werden.

Die Richtungsebenen bringe man bei Paraffinobjecten nach dem Verfahren von KASCHTSCHENKO an. Selbstverständlich wird die Reconstruction dadurch sehr erleichtert, wenn es möglich war, das Object vor dem Einbetten in toto zu zeichnen, und zwar nicht nur die äusseren Contouren, sondern auch die durchscheinenden inneren Organe. Zu diesem Zwecke wird das Object, welches nach Methode I behandelt war, aus dem Chloroformcedernholzöl in reines Cedernholzöl gebracht und dort aufgehellt, um nach dem Zeichnen in die kaltgesättigte Paraffinlösung in Chloroform zu kommen[1]. Die Zeichnung führt man bei derselben Vergrösserung aus, bei welcher man für die Reconstruction die Schnitte zeichnen will. Wie sich die Reconstruction selbst gestalte, wird im speciellen Theil dieses Buches mitgetheilt.

Die Anbringung von Richtungsebenen ist bei Celloidinobjecten noch einfacher als nach Paraffineinbettung, und das Object wird erst nach dem Einbetten und dem Anbringen der Richtungsebenen in toto gezeichnet. Dieses ist die eine der Ursachen, weshalb von Celloidinobjecten, nach unserem Verfahren wenigstens, eine viel sicherere und exactere graphische Reconstruction möglich ist. Die zweite Ursache ist, dass die Richtungslinien eines jeden Schnittes immer in derselben Lage zum Object bleiben, was beim Schneiden in Paraffin blos beim strengsten Einhalten der angegebenen Vorsichtsmassregeln der Fall ist, denn das geringste Zusammendrücken des das Object umgebenden Paraffins durch das Messer ändert die erwähnten Lagebeziehungen in mehr oder weniger hohem, aber immer unberechenbarem Grade. Die Richtungsebenen stellt man in der Weise her, dass man das in einem Glasgefäss mit ganz flachem Boden ausgegossene, in Dämpfen

[1]) Die nach Methode I behandelten Objecte besitzen bei einer sehr schönen Durchsichtigkeit auch ohne Tinction in Hämateïnlösungen eine sehr präcise Färbung, welche auch kleinere innere Organe ganz gut zeichnen lässt. Wenn die nach Methode II behandelten Objecte, welche übrigens meist zu gross sein werden, um in toto aufgehellt, gezeichnet und überhaupt mit dem Mikroskop graphisch reconstruirt zu werden, behufs Aufhellung in Cedernholzöl oder ein anderes Oel kommen, so muss man auf die Differenzirung des leitenden Elementes bei der Goldchlorid-Ameisensäure-Tinction meist verzichten.

von 70-80proc. Alkohol angehärtete, in 70-80proc. Alkohol weiter gehärtete und in Glycerin-Alkohol fertig gehärtete Celloidin mit dem Object zu einem rechtwinkligen Block (oder zu einem mehrseitigen Prisma) zuschneidet, so dass die als Richtungsebenen dienenden Flächen des Blockes vertical auf der zukünftigen Schnittfläche stehen und demnach z. B. bei Transversalschnitten parallel mit der Hauptachse des betreffenden Körpers sind. Der zurechtgeschnittene Celloidinblock kommt nun dadurch, dass man Alkohol und Wasser des Glycerinalkohols verdunsten lässt, in concentrirtes Glycerin und wird hier so durchsichtig, dass das Object bei jeder wünschbaren Vergrösserung und in den drei verschiedenen, durch die Richtungsebenen genau bestimmten Hauptlagen gezeichnet werden kann. Als Richtungslinien im Schnitt dienen die betreffenden Grenzlinien des Celloidinrahmens, welche, auch wenn das Celloidin ungefärbt ist, gut sichtbar sind. Noch auffälliger macht man sie, falls es sich um bereits gefärbte Objecte handelt, dadurch, dass man dem das Messer befeuchtenden Alkohol etwas Safranin (Methylenblau) zusetzt, wodurch das Celloidin eine bei der Beobachtung durchaus nicht störende Färbung annimmt. Beim Nachfärben bekommt auch das Cellodin meist etwas Farbe, aber man kann auch im Alkohol vor dem Chloroform etwas Safranin lösen.

Schneiden kann man das Celloidinobject entweder nach meiner neuen Methode mit trockenem oder nach der alten Methode mit feuchtem Messer. Gewöhnlich ist die letztere vorzuziehen. Zum trockenen Schneiden kommt das Object aus dem Glycerin, worin es in toto gezeichnet wurde, in einen Exsiccator, zum feuchten in 70proc. Alkohol. Das Aufkleben des trockenen Glycerin-Celloidin-Blockes geschieht etwas anders als das des feuchten Alkohol-Celloidin-Blockes, beide werden aber am besten auf Cylindern von ganz weissem Lindenholz (oder auf Stabilit, nach Jelinek [**1**]) befestigt. Trocken schneidet sich das Celloidin auch mit dem Quermesser sehr gut, feucht nur mit dem schrägen, immer besser mit raschen aber gleichmässigen, als mit langsamen Zügen. Ist das Object bereits in toto gefärbt, so befeuchtet man das Messer mit 95proc. Alkohol, sollen erst die Schnitte gefärbt werden, so genügt ein 90procentiger.

Vom Stück her gefärbte Schnitte ordne man nämlich nach der Bergamottölmethode auf dem Objectträger, ungefärbte nach der Glycerinalkoholmethode. Trockene, am besten im Stück gefärbte Schnitte sollen direct auf dem mit Gummisyrup bestrichenen Objectträger geordnet werden. Beim Nachfärben der Serie wird zum Entwässern (oder noch vor dem Färben zum Entfernen des Oels

oder Chloroforms) natürlich nicht Alcohol absolutus, sondern Chloroform-Alkohol (beziehungsweise 95proc. Alkohol) benützt.

In Glyceringelatine eingebettete Objecte schneidet man mit schrägem Messer unter Benetzung mit Alcohol absolutus (oder wenigstens 96proc. Alkohol). Die Serie ordne man auf der Messerfläche, ziehe sie mit einem aufgelegten Streifen von satinirtem Löschpapier von dort gegen die Messerschneide auf einmal ab und übertrage sie auf den mit wasserfreiem Glycerin sehr dünn und gleichmässig bestrichenen Objecträger indem man den Papierstreifen mit den Schnitten nach unten (wie ein Abziehbild) glatt auflegt und mit ganz geringem Druck des Fingers darüberstreicht. Dann hebt man den Papierstreifen vorsichtig ab und stellt den Objectträger mit den glatt und in der gewünschten Ordnung haften gebliebenen Schnitten in Alcohol absolutus, von wo sie in Chloroform kommen, um in Balsam eingeschlossen zu werden[1]. Oder aber man bedeckt die Schnitte, wenn sie schon gefärbt sind, sofort nach dem Abheben des Papierstreifens mit dem Deckglase, an dessen Unterseite sich ein Tropfen von Gummisyrup (oder Glycerin) befindet.

Celloidin-Paraffin-Objecte kann man, weil das Celloidin sehr hart wird, mit dem Schlittenmikrotom und den gewöhnlichen Messern meist nur bei schräger Messerstellung gut schneiden; dagegen kann man sie, wenn das Messer aus sehr hartem Stahl und gut im Stande ist, auch mit dem Rocking gut in Bänder zerlegen. Als Richtungsebenen dienen hier, wenn man beim Einbetten das längere Verfahren angewandt und den Celloidinblock vor dem Einlegen in Paraffin gehörig zugeschnitten hat, die Grenzlinien des Celloidinrahmens[2]; hatte man den kürzeren Weg des Einbettens gewählt, so bringt man die Richtungsebenen in derselben Weise, wie bei Paraffinobjecten, an. Zum Aufkleben der Schnitte ist auch hier destillirtes Wasser anzuwenden, man muss jedoch die Serie nach dem vollkommenen Antrocknen der Schnitte und vor dem Entfernen des Paraffins in eine halbprocentige Celloidinlösung tauchen, zu deren Anfertigung dreimal so

---

[1]) Auch das Nachfärben der Glyceringelatine-Schnitte ist möglich und wird in der im speciellen Theil zu schildernden Weise ausgeführt. Da jedoch bei den dazu nothwendigen Proceduren, ausgenommen wenn man in Alcohol absolutus gelöste Farbstoffe benutzt, viel von den Vortheilen dieser Einbettung wieder vernichtet werden kann, so ist es besser, in Glyceringelatine blos bereits im Stück gefärbte Objecte einzubetten.

[2]) In diesem Fall kann man auch das Bestreichen der Schnittfläche mit Celloidinlösung vermeiden, im anderen dagegen nicht.

viel Alcohol absolutus als Aethyläther genommen wurde. Die so angebrachte sehr dünne Celloidinmembran über den Schnitten lässt man vor dem Weiterbehandeln derselben erst vollkommen trocknen.

Die Objectträger, auf welchen man eine Serie aufreihen will, versehe man vorher mit den nothwendigen Zeichen, die man mit der Schöbel'schen Tinte auf sie schreibt. Ueberhaupt ist es rathsam, alle Objectträger, auf welchen man nicht blos zur momentanen Besichtigung, sondern auch zur weiteren Untersuchung dienende Präparate anfertigen will, vorher zu bezeichnen. Will man die Schnitte mit destillirtem Wasser befestigen, so lässt man die Schrift auf den Objectträgern bei gewöhnlicher Temperatur trocknen, und, bis auch die Schnitte richtig angetrocknet sind und das Präparat weiter behandelt werden kann, ist die Schrift dermassen unverwischbar und unvergänglich geworden, dass man den Objectträger ruhig in sämmtliche in der Mikrotechnik gebräuchliche Medien bringen kann, ohne die Schrift irgendwie zu alteriren. Handelt es sich um anderswie aufgeklebte Serien, welche nach kurzer Zeit weiter behandelt werden müssen, oder um Celloidinschnitte, die über Bergamottöl oder Glycerinalkohol gleich auf dem Objectträger geordnet werden u. s. w., so hält man die Unterseite des Glases unter der zu fixirenden Schrift über eine (nicht russende) Flamme, und nach 1-2 Minuten sind die angebrachten Zeichen fixirt[1].

Wie viele Objectträger man für ein in eine lückenlose Serie zu zerlegendes Object vorher bezeichnen soll, kann man einfach ausrechnen. Die hier in Betracht kommende Dimension des Objectes durch die Schnittdicke dividirt, ergiebt die Zahl der Schnitte, welche man bekommen wird. Ferner kann man leicht berechnen, wie viele Schnitte unter einem Deckglas von dem zu benützenden Format Platz finden, mit Berücksichtigung indessen, dass die einzelnen Schnitte nicht zu nahe an den Rand des Deckglases kommen dürfen, sondern dass ein etwa anderthalb Millimeter breiter Rand rund herum frei bleibe. Das Paraffin des Schnittes kann weiter nach aussen kommen, wenn nur das Object selbst weit genug vom Rande des Deckglases bleibt; dagegen muss bei Celloidinschnitten auch der Rand des umgebenden Celloidins in der erwähnten Entfernung vom Deckglasrande sein[2]. Die

---

[1]) Man darf indessen den Objectträger nur so weit erhitzen, dass man das andere Ende desselben mit den Fingern an den Kanten des Glases noch gut halten kann.

[2]) Falls man das Celloidin aus den Schnitten (so wie das Paraffin) entfernen will, was ja gelegentlich vortheilhaft sein kann (s. im speciellen Theil

Gesammtzahl der muthmasslich zu erhaltenden Schnitte ergiebt, dividirt durch die Zahl, welche unter einem Deckglas angeordnet wird, die Zahl der zu bezeichnenden Objectträger.

Die bei einer Serie von vornherein anzubringenden Zeichen sind: a) Ziffern oder Ziffern und Buchstaben, welche angeben, was das Object ist und wie es bis zum Schneiden behandelt war, b) die Schnittdicke in Mikromillimetern, c) die Ordnungszahl des Objectträgers in der Serie, d) die Richtung, in welcher die Schnitte in der Serie aufeinander folgen[1]. Alle diese Zeichen sollen sich links von der für die Schnitte frei zu haltenden Fläche befinden. Später, nachdem das Präparat fertig geworden ist, kann man rechts vom Deckglas die weitere Behandlung der Schnitte durch Abkürzungen, deren Bedeutung man sich festgestellt hat, notiren. Auch kann man unterhalb der links in erster Reihe angebrachten Zeichen, welche sich auf Aufzeichnungen eines Registers über das für mikroskopische Präparate vorbereitete Untersuchungsmaterial beziehen, den Namen (eventuell durch abgekürzte Worte auch die Vorbehandlung) des Objectes hinschreiben. Nähere Vorschläge hierüber werden wir im speciellen Theil im Capitel, welches das Montiren der Präparate behandelt, geben.

Sechstes Capitel.

Die Präparate und ihre Beobachtung.

§ 17.

Ueber die Deutlichkeit der Präparate.

Nachdem wir nun in den vorhergehenden Paragraphen die Wege, welche der Anfänger in der mikrotechnischen Bearbeitung seines Ma-

---

das Capitel über Celloidinserien), so gilt das von Paraffinschnitten hier Gesagte auch für Celloidinschnitte.

[1]) Paraffinserien und mit trockenem Messer verfertigte Celloidinserien beginne man am Objectträger oben links; die einzelnen Reihen von Schnitten sollen längs des Objectträgers verlaufen. Die zweite Reihe beginne man rechts, unterhalb des letzten Schnittes der ersten Reihe und führe sie nach links; die dritte Reihe gehe wieder von links nach rechts u. s. w. (Zick-zackförmige Anordnung). Mit feuchtem Messer verfertigte Celloidinserien, welche nach meiner Bergamottöl- oder Glycerinalkoholmethode direct auf das Glas gereiht werden, beginne man ebenfalls links oben; die einzelnen Reihen von Schnitten sollen jedoch am Objectträger quer verlaufen und auch die zweite Reihe, ebenso wie die folgenden, beginne man oben. (Anordnung in Querreihen. Auf dem Objectträger deutlich zu bezeichnen, damit keine Confusion entsteht!)

terials nach unserer Meinung am besten einschlägt, angedeutet haben, wollen wir ihm noch Einiges darüber mittheilen, wie seine Präparate aussehen sollen, wenn er sie für einen bestimmten Zweck als gut betrachten darf, und wie er sie beobachten, namentlich wie er hierzu Linse und Beleuchtung wählen soll.

Vor Allem bedenke er, was wir bereits wiederholt betont haben, dass kein Präparat für sämmtliche Untersuchungen, die an einem Object gemacht werden sollen, gut sein kann und immer nur für eine ganz beschränkte Verwendung vollkommen ist. Andererseits giebt es aber eigentlich auch keine schlechten Präparate, denn etwas kann man aus jedem lernen; sie können nur überflüssig sein, wenn man das, was sie einen lehren könnten, schon weiss. Dem Anfänger sind sie auch nicht überflüssig. Ein sogenanntes ungelungenes Präparat, welches nicht das, was man davon haben wollte, bietet, kann gerade das schärfste Licht auf die Bedingungen der verlangten Reaction werfen, sobald man sich nur dessen ganz deutlich bewusst ist, was man alles damit gemacht hatte.

Dagegen taugt jedes Präparat nur zur Untersuchung von den Lage- und Structurverhältnissen, welche es, bei gehöriger Vergrösserung und Beleuchtung, vollkommen deutlich zeigt: das Präparat soll, mit einem Wort, deutlich sein. Dieser Satz von der Deutlichkeit des Präparates ist ebenso selbstverständlich, wie die Zahl der wissenschaftlichen Arbeiten gross ist, für deren wesentlichste Resultate undeutliche Präparate als Grundlage gedient haben; er ist ebenso selbstverständlich, wie es gewöhnlich ist, dass sich die Anfänger mit den undeutlichen mikroskopischen Bildern, welche sie von ihren Präparaten erhalten, begnügen, wenn sie bereits bekannte Verhältnisse aus eigener Anschauung kennen lernen wollen. Sie glauben, dass die betreffenden Structuren in Wahrheit gar nicht so scharf und deutlich erscheinen können, wie auf den Zeichnungen der Forscher, die sie entdeckt oder genauer beschrieben haben.

Die Wahrheit ist indessen, dass die mikroskopischen Bilder, auf welche ein wirklich gewissenhafter Forscher seine Behauptungen gründet, so klar und deutlich sein können und sollen, dass ihnen in dieser Beziehung weder Beschreibung noch Zeichnung, seien sie auch noch so gut, gleichkommen. Allerdings kann ein Forscher auch nach ungeeigneten Präparaten, welche von den betreffenden Verhältnissen undeutliche mikroskopische Bilder liefern, eine sehr klare und anschauliche Schilderung und eine ebensolche Zeichnung geben. Einige treffen dabei das Richtige, die meisten stellen Irrthümer auf; auch

die ersteren haben blos richtig gerathen. Beweisen können sie das, was sie behaupten, nicht. Beweiskräftig ist nämlich nur ein solches Präparat, welches die fraglichen Verhältnisse im mikroskopischen Bild so klar und unverkennbar vorzeigt, dass sie Jedermann, der ein gutes Auge hat und im mikroskopischen Sehen überhaupt bewandert ist, nachdem er sich in dem ihm vorliegenden Bilde orientirt hat, sofort ganz genau sieht und richtig beschreiben könnte.

Natürlich muss man, bis man ein solches bekommt, gelegentlich eine ganze Anzahl von Präparaten verfertigen, aus denen allen wohl vieles zu lernen ist, die aber doch nicht gelungen sind, indem sie das, wozu man sie von vornherein bestimmt hat, nicht oder blos unvollkommen bieten. Des Aufbewahrens werth sind oft auch solche, nur begnügen darf man sich mit ihnen nicht. Im Gegentheil ruhe man so lange nicht, bis man keine Musterpräparate bekommen hat, das heisst solche, welche in den mikroskopischen Bildern, die man von ihnen erhält, entweder eine klare Illustration von bereits bekannten Verhältnissen, oder unanfechtbare Belege für eben entdeckte Thatsachen oder neue Anschauungen liefern. Manche mikrotechnischen Methoden, und diese sind natürlich die besten, sind so, dass jedes, oder beinahe jedes Präparat, welches eine erfahrene Hand nach ihnen verfertigt, ein Musterpräparat wird; bei anderen, leider noch immer nicht entbehrlichen Methoden wird nur ein kleinerer oder grösserer Procentsatz zu Musterpräparaten.

Der Anfänger wird jedoch nach keiner Methode sofort Musterpräparate erhalten. Er darf sich dadurch nicht zurückschrecken lassen; nach eventuell noch so vielen misslungenen Versuchen wird er endlich doch die richtigen Resultate erhalten, wenn er nur die wohlbegründeten Vorschriften erfahrener Forscher genau einhält. Ihm darf in jenen vorläufig nichts als nebensächlich erscheinen, nichts soll er anders, als genau in der vorgeschriebenen Weise machen. In den allermeisten Fällen werden seine Versuche nicht deshalb misslingen, weil der vorgeschriebene Weg nach dem Erstrebten nicht ganz der richtige war, sondern weil er ihn nicht genau genug innegehalten, hier oder dort unbewusste Abweichungen davon gemacht hat. Nachlässigkeiten darf er sich weder in der wesentlichen Verfertigung, noch in der äusseren Ausstattung der Präparate erlauben. Ein sauberes Präparat ist stets vertrauenserregender, als eines von schmierigem, ungepflegtem Aeusseren. Er muss lernen, hübsche Präparate zu machen, um gute zu erzielen.

Um das Gesagte kurz zusammenzufassen, so soll man stets un-

ermüdlich nach Musterpräparaten streben, der Anfänger, um Richtiges und gründlich lernen, der selbständige Forscher, um Richtiges und mit Recht lehren zu können.

§ 18.

Ueber die optische Seite der Beobachtung.

Was nun die optischen Bedingungen der richtigen Beobachtung anbelangt, so wollen wir hier unseren eingehenden Erörterungen im speciellen Theil etwas vorgreifen und Einiges über Objectträger und Deckglas, über das Einschlussmedium, über die in den verschiedenen Phasen der Beobachtung anzuwendenden Vergrösserungen und Linsen und die Art und Weise der Beleuchtung des mikroskopischen Bildes mittheilen.

Zunächst ist die Reinheit des Objectträgers und des Deckglases ebenfalls selbstverständlich, indessen kostet es einem Lehrer der Mikrotechnik beinahe immer die grösste Mühe, den Anfänger an die ausschliessliche Benutzung von in unserem Sinne reinen Objectträgern und Deckgläsern zu gewöhnen; kein Wunder, wenn oft sogar sonst bewährte Mikrographen viel gegen diese elementarste Regel der Herstellung mikroskopischer Präparate versündigen. Für uns genügt nämlich die Reinlichkeit im alltäglichen Sinne noch keineswegs. Wir benöthigen eine solche Reinlichkeit, wie der Chemiker, und eigentlich eine noch grössere, denn was der Chemiker nicht mehr sicher nachweisen, wägen und deshalb meist vernachlässigen kann, das fällt für uns oft noch schwer ins Gewicht. Und man glaube gar nicht, es sei ein Leichtes, diese Reinlichkeit zu erreichen. Der Handel liefert uns immer noch schmutzige Objectträger und Deckgläser. So ohne Weiteres dürfte man sie eigentlich nie benutzen. Der Anfänger, leider auch sehr häufig der Nichtanfänger, glaubt genug gethan zu haben, wenn er einen sogar ihm schmutzig erscheinenden Objectträger mit dem — vielleicht auch nicht ganz vorwurfsfreien — Taschentuch oder mit einem anderen beliebigen, im Laboratorium auch für andere Zwecke gebrauchten Tuch abwischt und ein Deckglas, um noch sicherer zu fahren, vorher mit Speichel befeuchtet. Dieses Verfahren ist gänzlich zu verpönen, ebenso wie das hastige Reinigen des nothwendig gewordenen einzelnen Glases dicht vor dem Gebrauch. Das Reinigen der Objectträger und der Deckgläser ist eine Kunst, welche besonders erlernt werden muss, und das Vorräthighalten einer genügenden Anzahl von solchen tadellos reinen nicht genug anzuempfehlen.

Die Unreinheit der Objectträger und der Deckgläser schadet uns namentlich in drei Richtungen. Erstens hängt das Gelingen mancher hochwichtigen Proceduren der Mikrotechnik von der absoluten Reinheit des Objectträgers oder des Deckglases ab. Zweitens ist sie eine Bedingung der Haltbarkeit vieler mikroskopischen Präparate, welche nach gewissen Methoden verfertigt wurden. Drittens ist sie für die eigentliche Beobachtung selbst, besonders für die Ausnützung und die richtige Deutung des mikroskopischen Bildes bei stärkeren Vergrösserungen, von der grössten Bedeutung. So kann man z. B. beim Aufkleben einer Serie mit Wasser durch Capillarattraction die Schnitte nur dann ungestört ordnen, eine tadellose Ordnung auch weiter erhalten und auf ein sicheres Haften der Schnitte bei sämmtlichen in der Mikrotechnik vorkommenden weiteren Operationen rechnen, wenn der Objectträger vollkommen rein, besonders von jeder Spur von Fett frei gewesen ist. Tinctionen mit Alaunhämateïn oder Chlorcalcium-Chloraluminiumhämateïn und Hämatoxylin-Chromsalzlacken halten sich nur dann vollkommen unverändert und eine unbeschränkte Zeit lang, wenn weder am Objectträger noch am Deckglas irgend etwas Säure (vielleicht vom Reinigen mit angesäuertem Alkohol her) zurückgeblieben ist, welche sich im Einschlussmedium lösen könnte. Ein ganz kleines Schmutzkörnchen oder ein trüber Fleck dicht unterhalb der Stelle, welche bei starker Vergrösserung untersucht werden sollte, kann in optischer Hinsicht so störend wirken, dass jene sonst vielleicht schönste Stelle ihre Beweiskraft vollkommen verliert. Aehnliche Unreinheiten über der betreffenden Stelle, hauptsächlich wenn sie noch oberhalb des Deckglases liegen, von wo sie auch noch wegzubringen sein können, schaden zwar bei starken Vergrösserungen nicht so sehr, aber in jedem Fall nehmen sie mehr oder weniger von der Lichtstärke des Bildes weg. Bei schwachen Vergrösserungen stören dagegen obenaufliegende Schmutztheile, wenn sie nicht sehr klein sind, vielleicht noch mehr als untenliegende.

Für die Grösse der Objectträger kommt in erster Linie in Betracht, dass man sie auf den Objecttisch des Mikroskopes bequem so auflegen kann, dass sie in allen bei der Untersuchung nothwendig werdenden Lagen in sicherem Gleichgewicht bleiben. Dabei ist es aus anderswo zu erörternden Gründen dringend anzurathen, für sämmtliche Präparate, soweit sie es nur irgendwie ohne Schaden erlauben, dasselbe Objectträgerformat zu gebrauchen[1].

---

[1]) Für gewöhnlich schlagen wir das sogenannte englische Format von Objectträgern vor; nur für Untersuchungsreihen, bei welchen Serien von

Für die Grösse der Deckgläser ist nun zunächst zu erwägen, dass zwischen den entsprechenden Rändern von Deckglas und Objectträger oben und unten ein mindestens anderthalb Millimeter, rechts und links anderthalb Centimeter breiter freier Raum bleibe. Besonders aber ist jenes bereits schon betonte Moment in Betracht zu ziehen, dass das Object nicht zu nahe zum Deckglasrande kommen darf. Erstens ist nämlich ein Object, z. B. ein tingirter Schnitt, falls das Präparat mit keinem besonderen Rahmen versehen ist, wie die feucht eingeschlossenen, dem allmählichen Verderben umsomehr ausgesetzt, je näher es dem Deckglasrande liegt; zweitens ist ein solches Object auch weniger gut zu untersuchen. Beim feuchten Einschluss, wo meist ein besonderer, der grösseren Sicherheit wegen etwas breiterer und dickerer Rahmen nothwendig ist, leuchtet die Schwierigkeit der Untersuchung der dem Rahmen zu nahe liegenden Stellen des Präparates von selbst ein, da man ja mit stärkeren Vergrösserungen an sie gar nicht heran kann. Beim trockenen, z. B. Balsameinschlusss, kann es dagegen leicht vorkommen, dass man während der Untersuchung solcher Stellen eine Linse von geringer Arbeitsdistanz entweder zerkratzt, wenn der am Deckglasrande eventuell hervorgetretene Balsam schon hart geworden, oder aber beschmiert, wenn er noch weich ist. Besonders nachtheilig ist aber dieser Umstand bei Oelimmersionslinsen, wo das Oel den Balsam wieder löst und dann noch schwieriger als sonst von den Randtheilen des Präparates wieder zu entfernen ist. Im Allgemeinen soll man lieber zu grosse, als zu kleine Deckgläser verwenden, indessen blos bis zu einer Grenze, dass die mit den sonstigen grösseren Dimensionen meist verbundene grössere Dicke des Deckglases die Benützung und die Ausnützung der im gegebenen Fall noch gebotenen stärksten Vergrösserungen nicht beeinträchtige. Wenn es nicht anders geht, so ist das nothwendige Verhältniss zwischen der Grösse des Deckglases und des darunter Einzuschliessenden durch Kleinergestaltung des letzteren herzustellen.

Eine möglichst geringe Dicke des Objectträgers ist, falls mit ihr die nothwendige Festigkeit des Präparates noch verbunden sein kann, im Allgemeinen sehr vortheilhaft. Weniger auffallend ist dieser Vortheil, vorausgesetzt, dass das Glas des Objectträgers an

---

grösseren Schnitten oder einzelne solche nothwendig sind, soll ein Format, welches ungefähr doppelt so breit und anderthalb Mal so lang ist wie das englische, also, in runden Zahlen ausgedrückt, 10 cm lang und 5 cm breit, gebraucht werden. Dies ist nämlich die maximale Grösse, welche bei unseren gegenwärtigen Instrumenten die oben erwähnte Bedingung noch erfüllt.

und für sich vollkommen durchsichtig, ohne jede Trübung und am besten farblos ist[1], bei schwachen Vergrösserungen und überhaupt bei einfacher Beleuchtung mit dem Spiegel ohne ABBE'schen Apparat. Dagegen ist er sehr wichtig bei Immersions-, besonders Oelimmersionssystemen, wo ein ABBE'scher Beleuchtungsapparat benutzt wird und die volle Apertur des letzteren ausgenützt werden soll.

Viel mehr Aufmerksamkeit als der des Objectträgers, muss man der Dicke des Deckglases schenken. Denn, abgesehen von den schwachen und höchstens mittelstarken Linsen[2], leistet jedes Objectivsystem sowohl an Schärfe der Zeichnung und Lichtstärke als auch an Richtigkeit der Färbung des mikroskopischen Bildes nur dann sein Bestes, wenn die Deckglasdicke innerhalb gewisser Grenzen bleibt. Aber innerhalb dieser Grenzen entspricht jedem Objectivsysteme bei gegebener Tubuslänge, z. B. von 160 mm, beziehungsweise auch gegebener Stellung des Correctionsringes, nur

---

1) Natürlich muss der Objectträger auch überall gleich dick sein, und beide Flächen müssen eine in jeder Richtung vollkommen gerade Ebene bilden. Es ist beim Untersuchen nichts unangenehmer, als wenn der an dem einen Ende berührte, vielleicht aufgedrückte Objectträger an dem anderen Ende auf einmal in die Höhe geht, oder wenn er überhaupt auf dem Mikroskoptisch wackelt. Das hier Gesagte gilt in noch höherem Maasse für die Deckgläser. Ungleiche Dicke und Unebenheiten der Deckgläser verlangen bei der Beobachtung eine fortwährend wechselnde Correction, was sehr zeitraubend und oft sehr mühsam ist.

2) Unter schwachen Objectivsystemen verstehen wir z. B. von den achromatischen Linsen von ZEISS die Buchstaben bis zu **B**, von denen von HARTNACK die Nummern bis zu **4**, von SEIBERT die Nummern bis zu **II**, von REICHERT bis zu **3** inclusive (wie überall in dieser Aufzählung) und **4b****. Mittelstarke Objectivsysteme sind die Buchstaben **C** und **D**, **DD** von ZEISS, die Nummern **5** und **6** von HARTNACK, **III** und **IV** von SEIBERT, **4**, **5** und **6** von REICHERT. Starke Objectivsysteme sind die Buchstaben **E**, **F** u. s. w. von ZEISS, die Nummern von **7** an von HARTNACK, von **V** an bei SEIBERT, von **7a** und **7** an bei REICHERT. Von den Ocularen (HUYGHENS'schen) bezeichne ich als schwache bis mittelstarke die Nummern **1**, **2** und **3** bei ZEISS, **1**, **2** und **3** bei HARTNACK, **0**, **I** und **II** von SEIBERT, **I**, **II**, **III** und **IV** von REICHERT. Starke Oculare sind **4** und **5** von ZEISS, **4**, **5** und **6** bei HARTNACK, **III** bei SEIBERT, **V** bei REICHERT. — Unter den apochromatischen Objectivsystemen nenne ich schwach das von **16**, mittelstark von **8** und stark von **4**, **3**, **2** und **1·5** mm Aequivalentbrennweite. Unter den Compensations-Ocularen sind schwach, resp. mittelstark die, welche als Angabe der durch sie bewirkten Ocularvergrösserung des Bildes die Nummern (**1**, **2**, Sucheroculare) **4** und **6** tragen; noch als mittelstark zu bezeichnen ist die für die meisten Fälle beste Nummer **8**, stark dagegen **12** und **18**.

eine bestimmte Deckglasdicke, bei welcher das System, mit einer Beleuchtung, die seine Apertur ganz zur Geltung kommen lässt, sein Optimum leistet. Für jede andere Deckglasdicke muss corrigirt werden.

Nehmen wir z. B. an, dass wir einen dünnen Schnitt in Canadabalsam eingeschlossen vor uns haben, welcher eine isolirende oder differenzirende, aber vollkommene, starke Tinction erfahren hatte. Die von einem solchen Präparat erhaltbaren mikroskopischen Bilder müssen bei vollkommen geöffnetem Abbe'schen Apparat (und Benützung des Planspiegels) in Bezug auf Schärfe der Zeichnung, auf Richtigkeit der Färbung und auf Lichtstärke tadellos erscheinen, so oft die Deckglasdicke die richtige ist. Selbstverständlich muss zu diesem Resultate, damit man die volle Oeffnung des Beleuchtungskegels ausnützen kann, auch die Apertur des Objectives entsprechend gross sein, davon, dass das letztere selbst gut gemacht und gut im Stand sein muss, gar nicht zu reden[1].

Verändert sich caeteris paribus blos die Deckglasdicke, so kann man in drei verschiedenen Weisen corrigiren, aber blos durch ein Mittel das erwähnte Optimum vollkommen wieder erreichen, so dass durch die Nothwendigkeit der Correction weder die Schärfe der Zeichnung, noch die Lichtstärke etc. leide. Dieses einzige Mittel ist die Benutzung des Correctionsringes. Aber auch mit ihr kann man blos einige Hundertstel Millimeter über und unter der gewöhnlichen mittleren Deckglasdicke von 0·15-0·20 mm corrigiren.

Ist das Deckglas noch dicker oder dünner, so muss man zu dem einen oder dem anderen der noch übrigen zwei Mittel greifen. Mit Veränderung der Vergrösserung, aber ohne erhebliche Einbusse an der Lichtstärke des Bildes, corrigirt man durch Veränderung der Tubuslänge, indem man die normal 160 mm lange Mikro-

---

[1]) Dieses durch die Behandlung des Präparates (s. weiter unten), namentlich durch genügende Färbung stets zu erstrebende Resultat wird schon vollkommen erreicht bei der Benützung eines Abbe'schen Apparates mit 1·40 Apertur und eines vorwurfsfrei gemachten und sich noch in ganz gutem Zustande befindenden (z. B. an der Frontlinse durch keine sogenannte Oxydschichte getrübten) apochromatischen Objectivsystems von 4 mm Aequivalentbrennweite, 0·95 numerischer Apertur (mit Compensationsocular 4, 8 und sogar 12; ganz wenig verschleiert, aber noch immer brauchbar ist das Bild mit Ocular 18, einer 1200fachen Vergrösserung entsprechend). Eine wichtige Bedingung indessen ist, dass man die Deckglasdicke vollkommen corrigire, und dass diese überhaupt innerhalb der Grenzen sei, wo man für die Correction mit Correctionsring und Veränderung der Tubuslänge noch auskommt.

skopröhre, wenn das Deckglas über das durch den Correctionsring corrigirbare Mass dick ist, allmählich einschiebt, verkürzt, oder, wenn das Deckglas über die Massen dünn ist, auszieht, verlängert. Im ersteren Falle gewinnt man sogar an Lichtstärke, verliert aber an Vergrösserung; im letzteren verliert man etwas an Lichtstärke, kann aber an Vergrösserung Bedeutendes gewinnen. Nur soll man die Vergrösserung ja nicht über den Punkt hinaus, wo die übermässige Dünne des Deckglases bereits corrigirt ist, durch weiteres Ausziehen des Tubus verstärken wollen, denn sofort verliert man an Schärfe der Zeichnung, was man an Vergrösserung gewonnen hat.

Kann die erwünschte Schärfe der Zeichnung auch auf diesem Wege nicht erreicht werden, indem die Mikroskopröhre nicht weiter einschiebbar oder ausziehbar ist, so muss man von der Lichtstärke und der richtigen Färbung des mikroskopischen Bildes mehr oder weniger opfern und zum dritten Mittel, zum Abblenden des Lichtes, greifen. Man zieht, gleichwohl ob das Deckglas zu dick oder zu dünn ist, die Irisblende unter dem Beleuchtungsapparat so weit zu oder setzt ein so enges Diaphragma ein, senkt eventuell den Apparat so weit, bis die grösste noch mögliche Schärfe errreicht ist. (Will sie überhaupt auf keine Weise genügend gross werden, so ist das ein Beweis davon, dass entweder das Präparat nichts taugt oder die Linsen nicht hinreichen.)

Man kann aber sofort zu dieser dritten Methode greifen und auf die zweite ganz verzichten, und dieses ist sogar der Brauch der meisten Mikroskopiker. Falls man an der betreffenden Linse keinen Correctionsring hat und deshalb blos zwischen den zwei letzteren Mitteln zu wählen hat, corrigire man für ein gefärbtes Präparat, damit die Färbung besser zur Geltung kommen kann, zunächst durch die Veränderung der Tubuslänge, für ein ungefärbtes dagegen, wo mehr eine auf natürliche Lichtbrechungsdifferenzen basirte Zeichnung im mikroskopischen Bild erhalten werden soll, sofort durch engere Diaphragmen. Bei Oelimmersionssystemen, wo keine Correctionsringe angebracht werden und der volle Beleuchtungskegel des Condensors nothwendig ist, um die Linsenapertur ganz auszunutzen, bleibt für die etwa erforderliche Correction blos die Veränderung der Tubuslänge übrig. Die Optiker behaupten zwar, dass die Oelimmersionssysteme zwischen weiten Grenzen unabhängig von der Deckglasdicke sind, dies ist jedoch in der That nur zwischen ziemlich engen Grenzen der Fall, so dass Jemand, der seine Linsen vollkommen ausnützen will und von ihnen stets das Beste, was sie können, fordert, gar nicht selten in

die Lage kommen wird, auch bei Oelimmersionssystemen (sogar Apochromaten von der grössten Apertur) zu corrigiren.

Da er nun durch die Verwendung eines dünneren Deckglases als das Mittel bei etwas über die Norm verlängertem Tubus die maximale Schärfe und eine kaum merkbar verminderte Lichtstärke eines grösseren Bildes als sonst erhält, so thut er wohl besser, sich bei der Wahl der nie ganz gleichen Deckgläser einer Schachtel, welche angeblich mitteldicke enthält, an die dünneren und nicht an die dickeren zu halten. Dies soll er aber ganz besonders dann thun, wenn er verhältnissmässig grosse Deckgläser verwenden muss und seine Präparate doch auch mit stärkeren Vergrösserungen untersuchen will. Nicht selten kommt es vor, dass man Präparate mit etwas grösseren Deckgläsern (z. B. von 22×40 Seite, einem für Schnittreihen mit Recht sehr beliebten Format) mit Objectivsystemen von 3 mm Aequivalentbrennweite gar nicht mehr untersuchen kann, weil das Deckglas zu dick ist, obwohl eine solche Untersuchung sonst sehr wünschenswerth wäre. Deshalb und weil man, wie die vorausgegangene Erörterung zeigt, eine zu grosse Dünne des Deckglases mit viel weniger Verlust an den Leistungen seiner Linse corrigiren kann, als eine zu grosse Dicke, nehme man auch im Allgemeinen für jedes Object, welches nicht schon wegen seiner Natur blos zu Untersuchungen bei schwächeren Vergrösserungen taugt, lieber Deckgläser unter als über der Mitteldicke. Am allerbesten sind die Deckgläser von 0·15 mm Dicke[1].

Zur nächsten der Bedingungen, die wir bezüglich der optischen Seite der Untersuchung ins Auge gefasst haben, übergehend, wollen wir zunächst darauf hindeuten, dass das Einschlussmedium, beziehungsweise Untersuchungsmedium in gewisser Hinsicht auch ein Mittel der Beleuchtung des Objectes ist und viel zur Erhaltung eines brauchbaren mikroskopischen Bildes beiträgt.

Wenn das Object oder blos dessen gerade in Betracht kommenden Structurelemente ungefärbt sind und auch keine Eigenfärbung besitzen, so müssen sie in ein umso schwächer brechendes Medium eingeschlossen werden, je zarter sie sind und ein je geringeres Lichtbrechungsvermögen sie selbst besitzen. Solche Medien sind gelegent-

---

[1]) Man darf übrigens nicht vergessen, dass blos für die unmittelbar der Unterfläche des Deckglases anliegenden Stellen des Präparates die Deckglasdicke allein in Betracht kommt; sonst muss auch jene Schichte des Einschlussmediums, welche sich zwischen der eingestellten Stelle und der Unterfläche des Deckglases befindet, mit corrigirt werden; für diese Stelle ist es, als ob das Deckglas um so vieles dicker wäre.

lich nicht nur nicht aufhellend, sondern sogar dunkelmachend. Hier müssen sie also nicht zur Beleuchtung, sondern eher dazu dienen, dass die Linien des mikroskopischen Bildes durch geeignete Beschattung verstärkt und so leichter wahrgenommen werden können. Für ungefärbte Structuren, welche man auch mit stärkeren Vergrösserungen untersuchen will, ist im Allgemeinen die noch geeignete maximale Lichtbrechung des Einschlussmediums ungefähr die des halbverdünnten Glycerins; die minimale Lichtbrechung, welche wir praktisch noch verwerthen können, ist die der trockenen Luft. Nur in Fällen, wo es sich um die Untersuchung von sehr stark brechenden Elementen handelt, kann man auch für ungefärbte Objecte Einschlussmedien von höherem Brechungsindex nehmen. Ein farbloses, zartes Gefüge z. B. in Canadabalsam untersuchen zu wollen, wäre ganz widersinnig. In diesem Fall müsste man zu verschiedenen besonderen Künsten der Beleuchtung, besser Beschattung, seine Zuflucht nehmen, um das entziffern zu können, was bei einem Einschluss in ein schwach brechendes Medium von selbst klar hervortreten würde.

Nicht weniger widersinnig ist es aber, die richtig, also mit der erforderlichen Intensität gefärbten Structuren in schwach brechenden Medien einzuschliessen. Ist etwas richtig gefärbt, so ist es in einem stark brechenden Einschlussmedium nur in das gehörige Licht gestellt, wo es am schärfsten gezeichnet und in seinen wirklichen Farben erscheint; alles, was in einem solchen Medium unklar und blos in einem schwächer brechenden deutlich wird, ist eben ungenügend gefärbt und gehört in die vorige Kategorie. Ein auf das, was man untersuchen will, richtig gefärbtes Object z. B. in Wasser oder Methylalkohol, die schwächst brechenden flüssigen Einschlussmedien der Mikrotechnik, einzuschliessen, ist so viel, als zum Fenster hinauszuwerfen, was man zur Thüre mit Mühe hereingebracht hat. Wir wollen diesen Satz im Folgenden etwas stärker beleuchten, ohne indessen auf Einzelheiten der Beweisführung, welche im speciellen Theil folgen, hier einzugehen.

Auch in einem sonst gefärbten Object können Structurbestandtheile ungefärbt geblieben sein, entweder weil ihre Differenzirung nicht gelungen ist, oder weil man es ursprünglich nicht bezweckte, sie auf färberischem Wege hervorzuheben. Wenn man nun doch in die Lage kommt, hauptsächlich diese Verhältnisse untersuchen zu müssen, so mag man ja das betreffende Präparat in ein schwach brechendes Medium einschliessen. Will man aber die gefärbten Elemente desselben Objectes genau beobachten, so macht man

sich am besten ein neues Präparat, welches man in ein stark brechendes Medium einschliesst.

Kann man jedoch dies nicht thun — und zwar wegen Mangel an Material, denn dies ist der einzige unanfechtbare Grund dazu —, so muss man sich natürlich auch bei der Untersuchung der gefärbten Elemente mit dem in einem schwach brechenden Medium eingeschlossenen Präparat behelfen, indem man es wenigstens bei der stärksten Beleuchtung beobachtet, also z. B. den Condensor ohne Blende benutzt oder nur so weit abblendet, wie es unumgänglich nothwendig ist, um den Schleier vom mikroskopischen Bild zu entfernen, welcher dann entsteht, wenn die Apertur des Condensors im Verhältniss zu der des Objectivs zu gross, oder das letztere nicht ganz im Stand ist[1]. Bei einem schwach brechenden Einschlussmedium und einer starken Beleuchtung erhält man nämlich vom mikroskopischen Bild denselben Eindruck, als ob man bei Verwendung eines stark brechenden Einschlussmediums die Beleuchtung mehr oder weniger abgeblendet hätte.

Es soll jedoch das Endziel der modernen Mikrotechnik sein, sämmtliche Structurelemente auf färberischem Wege nicht nur zu isoliren, isoliren von der structurlosen Umgebung und von einander, sondern sie auch bei gleichzeitiger Färbung der anderen (eventuell sämmtlichen) Structurbestandtheile zu differenziren. Sie muss also Färbungen und Farbenunterschiede im Bild hervorrufen. Die hauptsächlichsten Ursachen, weshalb sie dies zu thun hat, sind: a) um die Structurelemente überhaupt auffälliger zu machen, b) um Formen und Dimensionen der Structurelemente, d. h. die Zeichnung des mikroskopischen Bildes von dem verfälschenden Einfluss der Lichtbrechungsunterschiede (zwischen Einschlussmedium und Structurelementen einerseits und zwischen den verschiedenen Bestandtheilen des Objectes andererseits) zu befreien, c) um durch die Färbungsunterschiede Reactionen zu gewinnen, nach

[1]) Man kann also durch weitere Abblendung gewissermaassen auch die Unvollkommenheiten der Linse corrigiren, natürlich auf Kosten der Lichtstärke und der Farbenrichtigkeit des mikroskopischen Bildes. Ein mikroskopisches Bild, welches blos deshalb, weil die Deckglasdicke nicht corrigirt war, schleierhaft erschien, wird klar und bekommt eine scharf ausgeprägte Zeichnung, sobald das Diaphragma gehörig verengt ist. Gelegentlich aber wird die erwünschte Schärfe des Bildes erst dann eintreten, wenn bereits das Licht zur Beobachtung zu wenig geworden ist. Desshalb können zu unklare Linsen (auch ohne die groben Fehler der Aberrationen), auf welche Weise man auch corrigirt, nie brauchbare Bilder liefern.

welchen die Structurelemente leicht zu erkennen und von einander zu unterscheiden sind.

Nun contrastirt erstens ein stark brechendes Medium am wenigsten mit den meist ebenfalls ziemlich stark brechenden Structurelementen und hebt sie daher ungefärbt am wenigsten hervor. Zweitens trägt es gewissermaassen selbst zur Beleuchtung des mikroskopischen Bildes bei, und, je stärker diese Beleuchtung ist, umsomehr werden die natürlichen Lichtbrechungsunterschiede ausgelöscht. Drittens ist auch die (in Ermangelung einer natürlichen) künstlich verliehene Färbung der Structurelemente umso richtiger zu unterscheiden, je stärker die Beleuchtung. Aus alledem folgt also, dass man blos Structuren, welche man nicht gefärbt hat oder nicht intensiv genug färben konnte, und welche deshalb in stark brechenden Medien verschwinden oder wenigstens undeutlich werden könnten, in schwach brechenden Medien untersuchen soll, gefärbte dagegen stets in stark brechenden[1].

Der dritte Punkt, den wir hier zu besprechen haben, ist die Wahl der Linsen oder der Vergrösserungen, welche man bei einer Untersuchung anwenden soll. Wir wollen dem Anfänger besonders zwei Massregeln ans Herz legen: erstens soll er jede Untersuchung mit möglichst schwachen Vergrösserungen beginnen und zweitens soll er nie stärkere Vergrösserungen, als gerade nothwendig sind, gebrauchen.

---

[1]) Man könnte vielleicht dennoch sagen, dass die allerzartesten Gebilde, wenn sie auch möglichst stark gefärbt sind, besser in schwach brechenden Medien untersucht werden. Hat ja Bütschli zarte Wabenstructuren, welche er sehr stark gefärbt hatte, in dünnen Schnitten in Wasser untersucht, dabei das Licht noch ziemlich abgeblendet, empfiehlt sogar diese Untersuchungsweise ganz angelegentlich ([1] u. A. auf p. 59 und p. 80). Gelingt es einem, die fraglichen Structurelemente gehörig zu färben, so kann man sogar in Tolubalsam (dem am stärksten brechenden Medium der Mikrotechnik) Fibrillen und natürlich auch quergeschnittene Wabenwände (falls der Durchmesser der Wabenlumina nicht unter 1/3 μ ist) von kaum 0·1 μ Dicke noch sehr gut unterscheiden oder verfolgen bei Benützung des ganzen Beleuchtungskegels eines Abbeschen Apparates von 1·40 Apertur. Um sich aber so färben zu lassen, müssen die Substanzen, aus welchen die betreffenden Structurbestandtheile bestehen, eine gewisse, nicht zu geringe Dichtigkeit besitzen. Je weniger dicht sie sind, umso weniger intensiv gefärbt erscheinen sie caeteris paribus. Das einzige Hinderniss, welches in dieser Beziehung der mikroskopischen Wahrnehmung in stark brechenden Medien und bei starker Beleuchtung im Wege steht, ist also eine zu geringe Dichtigkeit des Wahrzunehmenden. Und wenn

Man versäume es nicht, sich auch dann, wenn die eigentliche Untersuchung mit starken Vergrösserungen vor sich gehen soll, immer zunächst bei schwachen über das Ganze des Präparates zu orientiren. Erst dann soll man allmählich immer stärkere Vergrösserungen zusammenstellen und nie zu einer stärkeren übergehen, bevor man Alles, was das Präparat bei der schwächeren nur bieten kann, erschöpft hat. Vieles bleibt einem bei starken Vergrösserungen verborgen, was man zwar auch bei ganz schwachen nicht zu unterscheiden, aber bei mittelstarken sehr gut zu beobachten im Stande ist. Es ist sehr falsch zu glauben, dass jedes Structurverhältniss umso deutlicher wird, je stärker die Vergrösserung; im Gegentheil wird Vieles, was bei einer schwächeren Vergrösserung noch ziemlich scharf zu sehen war, bei einer stärkeren nur verschwommener, abgesehen davon, dass viele in ihrer Art vorzügliche Präparate überhaupt nur bei schwachen oder mittleren Vergrösserungen untersucht werden wollen, obwohl ihre Dicke und Durchsichtigkeit Untersuchungen sogar mit den stärksten Vergrösserungen zulassen würden.

Nur zu oft sucht man, wenn man mit der Deutlichkeit seiner Bilder nicht zufrieden ist, sein Heil in stärkeren Vergrösserungen, anderen und besseren Beleuchtungen, ja sogar in besseren Instrumenten, wo man doch eigentlich nur danach trachten müsste, bessere Präparate zu machen. Mir erscheint es immer als ein sehr ärmlicher Einwand gegen die Resultate von anderen, zu sagen, dass man das oder jenes nicht finden konnte, obwohl man bessere Linsen, bessere Beleuchtungen, stärkere Vergrösserungen benutzt habe. Vielleicht hat der Betreffende schlechtere Präparate gehabt, und gegen eine mangelhafte Mikrotechnik helfen selbst die hervorragendsten Optiker nicht.

---

auch ein wenig dichtes Structurelement noch so blass ist, so ist es wegen des Contrastes mit der ungefärbten und bei voller Beleuchtung und gutem Instrumente ganz weissen Umgebung doch viel leichter zu erkennen, als auf Grund des minimalen Lichtbrechungsunterschiedes zwischen dem Untersuchungsmedium — bei Bütschli Wasser, bei Rabl ([1] p. 30) in ähnlichen Fällen der etwas noch schwächer brechende Methylalkohol — und dem Structurelement. Ist die Lichtbrechung der beiden gleich, so ist das Structurelement für die Wahrnehmung bei ihrer Methode doch verloren, weil die demselben verliehene Färbung, die sehr blass ist, im Halbdunkel des Gesichtsfeldes optisch wirkungslos wird. Um einen wirklich namhaften Lichtbrechungsunterschied, welcher zur Erkennung solcher Sachen beitragen könnte, hervorzurufen, müsste man sie mindestens in Luft untersuchen, wie ich bei Wabenstructuren auch gethan habe ([9] p. 359). Und viele feinste Structuren sind in Luft gar nicht so schlecht zu erhalten.

Kennt man aber schon ein Präparat und will man eine gewisse Stelle bei stärkeren Vergrösserungen, z. B. mit Oelimmersionssystemen weiter beobachten, so würde man auch ganz falsch verfahren, wenn man sofort die Immersionslinse einstellen und nun so auf der Suche nach der betreffenden Stelle auf dem Deckglas in Oel herumschwimmen würde. So findet man das, was man sucht, sehr schwer, verliert viel Zeit, ermüdet seine Augen und zerkratzt obendrein eventuell noch seine Linse. Zuerst suche man jene Stelle mit einem schwachen Objectiv und womöglich mit demselben Ocular, welches man weiter benützen will, auf, klemme das Präparat auf dem Mikroskoptisch an beiden Seiten fest und stelle nun ein mittelstarkes Objectiv ein. Für dieses soll nun die Stelle ganz genau in die Mitte des Gesichtsfeldes gebracht werden. Dann bringe man einen reichlichen, aber noch nicht auseinanderfliessenden Tropfen Immersionsöl auf das Deckglas und gehe erst jetzt zum Einstellen des Immersionssystemes über. Diese von aussen genau ins Auge fassend, senkt man es so weit hinunter, bis die Frontlinse das Oel, welches eine einheitliche, stark convexe Oberfläche besitzen muss, berührt. Erst jetzt stelle man, in das Mikroskop schauend, mit der Mikrometerschraube endgültig ein.

Stärkere Vergrösserungen, als gerade nothwendig sind, wende man ausser den obigen Ursachen namentlich aus zwei Gründen nicht an. Erstens weil es, um den Wahlspruch eines geistreichen Diplomaten zu citiren, keinen Sinn hat, mit Kanonen auf Spatzen zu schiessen; zweitens weil je stärker die Vergrösserung, umso schwerer die richtige Deutung des mikroskopischen Bildes und umso leichter die Täuschungen, welchen der Anfänger nicht immer, ja sogar nur selten auszuweichen im Stande ist. Dazu kann als dritter Grund noch der Umstand erwähnt werden, dass bei den stärkeren Vergrösserungen entsprechend weniger von dem Präparat in einem und demselben Gesichtsfeld erscheinen wird; und obwohl man feinere Einzelheiten mit dem Steigern der Vergrösserung bis zu einer gewissen Grenze immer besser sieht, so ist es doch dafür umso schwerer, sich einen Begriff von dem

---

[1]) Beim Wechseln des Oculars nach dem Einstellen der Immersionslinse kann der Anfänger eventuell dadurch in grosse Verwirrung gerathen, dass etwas von oben in den Tubus auf die oberste Linse des Objectivsystems fällt, und das mikroskopische Bild um keinen Preis wieder scharf genug werden will. Allerdings ist das Vorhandensein von kleineren Gegenständen, z. B. einzelnen feinen Staubkörnchen auf der obersten Linse des Objectivs nicht schlimm; aber die Dimensionen derselben können doch leicht unbemerkt über die erlaubten Grenzen hinausgehen.

Zusammenhang der Theile, von dem Wesen des Ganzen zu machen, welches man sich, wie ein Mosaikbild, aus kleinen Bruchstückchen zusammenstellen muss. In dieser Beziehung geht es Jemandem, der sein Präparat mit zu starken Vergrösserungen durchforschen will, so wie demjenigen, der ein Object aus zu dünnen Schnitten reconstruiren wollte. Beide verschwenden viel Zeit und vergrössern doch nur die Gefahr, sich bei der Reconstruction zu täuschen.

Sehr vorsichtig sei der Anfänger besonders bei dem Verstärken der Vergrösserung durch Einsetzen von stärkeren Ocularen. Sogar bei apochromaten Objectiven und Compensationsocularen, wo man sich in dieser Hinsicht viel mehr als sonst erlauben kann, erfordert die vortheilhafte Anwendung starker Oculare Finessen der Correction und der Beleuchtung, auf welche der Anfänger von selbst kaum verfallen könnte, und eine Vorsicht im Deuten des Bildes, welche für ihn eine zu grosse Aufgabe wäre. Wir können auf diese in unserem Buche natürlich nicht eingehen, wollen ihm dagegen Folgendes zur Beherzigung anempfehlen: nicht nur mit je einfacheren Methoden, sondern auch mit je geringeren Vergrösserungen sich der angehende Forscher bei seiner Arbeit zu behelfen weiss, umso weniger Lehrgeld wird er an widerlegten Behauptungen zu zahlen haben. Natürlich wollen wir damit nicht meinen, dass er sich mit dem Holzessig Purkinje's und dem Simplex von Baer's auch heute noch begnügen sollte.

Was wir über die Beleuchtung des mikroskopischen Bildes hier sagen wollten, ist zum grossen Theil schon in dem über Einschlussmedien Erwähnten inbegriffen. Welche Beleuchtung wir, abgesehen von der Art der Lichtquelle, welche ein weisses und ganz ruhiges Licht geben soll, wählen, ob wir mit oder ohne Abbe'schem Apparat (oder anderem Condensor), mit oder ohne Blende und mit was für einer Blende, mit dem Planspiegel oder mit dem Concavspiegel beobachten, hängt besonders von zwei Umständen ab: erstens von der angewandten Vergrösserung und zweitens davon, ob die untersuchte Structur gefärbt oder ungefärbt ist. Besondere Fälle verlangen besondere Modificationen der Beleuchtung, welche wir hier nicht berücksichtigen wollen.

In Bezug auf die angewandte Vergrösserung sei über die Beleuchtung folgendes erwähnt. Hat man keinen Beleuchtungsapparat, so arbeite man gewöhnlich mit dem Hohlspiegel. Zu dem Planspiegel greife man blos in besonderen Fällen, namentlich wo man das mikroskopische Bild in verschiedenen Richtungen stark beschatten will, um etwa sonst zu dünne und deshalb schwer bemerk-

bare Linien u. s. w. scheinbar zu verstärken und dadurch auffälliger zu machen. Hat man einen Beleuchtungsapparat, welchen man nicht immer wieder entfernen will, so nehme man für schwach vergrössernde Objecte den Hohlspiegel, für starke immer den Planspiegel; bei mittleren Systemen ist es meist einerlei, welchen man nimmt. Nur wenn durch Combinirung von mittelstarken Objectiven und starken Ocularen eine beträchtlichere Vergrösserung (z. B. eine über 250fache) entsteht, ist es besser, den Planspiegel zu nehmen. Was die Oeffnung der Blende bei Nichtbenutzung des Beleuchtungsapparates anbelangt, so sei diese für gefärbte Structuren im Allgemeinen gross (oder man entferne die Blende ganz), für ungefärbt zu untersuchende umso geringer, je stärker die Vergrösserung, so weit es die nothwendige Lichtstärke des Bildes noch erlaubt. Bei schwachen Vergrösserungen soll durch die Wahl der Blendenöffnung blos das arbeitende Auge vor zu viel Licht geschont werden, man nehme eben die Blende, bei welcher man das Arbeiten am angenehmsten findet, sie kann also auch eng sein, vorausgesetzt, dass sie das Gesichtsfeld nicht einschränkt.

Die Benutzung eines Beleuchtungsapparates, am besten des Abbe'schen, und zwar die möglichst starke Ausnützung desselben so weit, wie es die Fähigkeiten des Objectivsystems gestatten, ist bei Untersuchung gefärbter Structuren nicht dringend genug zu empfehlen. Zunächst beginne man ihre Beobachtung, sobald man bei der Verwendung von mittelstarken Vergrösserungen angelangt ist, mit dem vollen Beleuchtungskegel und corrigire dann durch Abblenden (Zusammenziehen des Irisdiaphragmas oder Einsetzen von Blendscheiben mit immer geringerer Oeffnung) das eben functionirende Objectivsystem allmählich so weit, bis der anfangs vielleicht vorhandene Schleier von dem Bilde verschwunden ist und die gefärbten Structurelemente klar, mit ganz scharfen Grenzlinien erscheinen. Sobald sie aber mehr oder weniger dicke schwarze oder glänzende Contourlinien, besser gesagt Säume von anderer Farbe, als sie vorher bei geringerer Abblendung zeigten, erhalten, so ist das ein Zeichen davon, dass man im Abblenden zu weit gegangen ist, und dass auf Lichtbrechungsdifferenzen beruhende optische Erscheinungen das mikroskopische Bild zu fälschen beginnen, was man durch die starke Beleuchtung gerade vermeiden wollte. Ungefärbte und ungenügend gefärbte Structurelemente bleiben bei solcher starken Beleuchtung im mikroskopischen Bild verborgen oder erscheinen verschleiert; bei steigender Abblendung der Lichtstrahlen tauchen sie dagegen allmählich auf und füllen die früheren Lücken des Bildes aus, in welchem nun

die gefärbten Elemente nicht mehr in der früheren reinen, sondern, wie die Gegenstände in der Natur beim Herannahen der Dunkelheit, in mehr mit grau abgetönten Farben erscheinen, durch die der eigene Glanz der betreffenden Substanzen durchschimmert. Zum Erkennen der allerzartesten ungefärbten Gebilde, deren Lichtbrechung sich wenig von der des umgebenden Mediums unterscheidet, muss man den Beleuchtungsapparat gelegentlich noch senken, ja sogar ganz entfernen; und dann ist es immer vortheilhafter, den Hohlspiegel zu benutzen. (Grosse Unterschiede zwischen der Lichtbrechung der untersuchten Structuren und der des Mediums erfordern Beleuchtungsapparat und Planspiegel.) Ist dagegen eine Färbung von gehöriger Intensität vorhanden, so kann ein Punkt noch so klein, eine Fibrille noch so dünn und nahe an andere gelagert, ein Maschenwerk noch so eng und von noch so feinen Linien geflochten sein, man sieht sie doch bei der allerstärksten Beleuchtung mit der allergrössten Deutlichkeit, und dazu, wie erwähnt, in Zeichnung, Dimensionen und Färbung nur bei solcher Beleuchtung richtig. Immer möglichst stark, einerlei ob isolirend oder differenzirend, zu färben und in einem stark brechenden Medium, bei starker Beleuchtung zu untersuchen; das ist nach unserer Ueberzeugung die stets zu erstrebende Art und Weise der Beobachtung feiner Structurverhältnisse.

Zum Schlusse müssten wir noch einige Worte über die Beobachtung selbst sagen. Ueber diesen Gegenstand könnte man eigentlich gar nicht genug sprechen, mit kurzen Andeutungen wäre nichts gethan. Desshalb erwähne ich nur eines. Um Richtiges zu sehen, dazu gehört die grösste geistige Aufmerksamkeit und ein noch unermüdetes Auge. Was in dem mikroskopischen Bilde nach stundenlanger Betrachtung einer und derselben Stelle dem Auge durch die beginnende Müdigkeit vorgezaubert wird, an dessen Realität, glaube ich sehr wenig. Wenn ein Präparat eine Structur, auf welche man bereits gefasst ist, bei geeigneten optischen Hilfsmitteln nicht sofort enthüllt, so taugt es eben zu dem, was man davon verlangt, nicht. Ueber ein Verhältniss, welches ich in meinem Präparat erst nach stundenlangem Suchen irgendwie entziffern mag, würde ich vorläufig schweigen und anstatt Hypothesen über die Natur desselben zu machen, lieber Methoden suchen, um es deutlicher, gleich in den ersten Minuten der Betrachtung sichtbar, herzustellen. Gewiss wird einem bei flüchtiger Beobachtung Manches entgehen, was, nachdem man darauf aufmerksam geworden ist, sehr deutlich wahrgenommen werden kann.

Desshalb ist eine aufmerksame Betrachtung des Präparates die erste Bedingung jeder Untersuchung; eine gewissermassen gewaltsame Beobachtung, wie sie neuerdings sogar empfohlen wurde, hat dagegen keinen Zweck und vermehrt blos die Gefahren der Täuschung, welchen der Mikroskopiker ja so schon genug ausgesetzt ist[1].

---

[1]) M. HEIDENHAIN ([1] p. 121) sagt: „Dies ist die Thatsache, dass die Unterschiedsempfindlichkeit der Retina, ihre Fähigkeit, distinkte Bilder zu übermitteln, sofern zwei, drei, vier Stunden lang hintereinander an demselben Objecte (an derselben Zelle) mikroskopirt wird, mit jeder Stunde wächst, bis zu einem gewissen Maximum, so dass schliesslich thatsächlich Dinge gesehen werden, die man sonst, bei nur kurz dauernden Beobachtungsperioden nicht, oder jedenfalls nicht ohne weiteres zu sehen bekommt". Er beruft sich hierbei auch auf C. RABL ([1] p. 22), der ebenfalls behauptet, dass er mehrmals in mitotischen Spindelfiguren, in denen er anfangs kaum mehr als vier oder fünf Fasern deutlich sehen konnte, nach mehrstündiger aufmerksamer Beobachtung deren 40-50 deutlich auf grössere Strecken hin zu verfolgen im Stande gewesen ist. — Auch mir steht es, ebenso wie M. HEIDENHAIN, über allen Zweifel fest, „dass es mikroskopische Dinge giebt, die auch vom geübten Auge nicht gesehen werden, wenn auf die Betrachtung des Präparates nur einige Minuten verwendet werden". Ich glaube aber, wie gesagt, dass das, was man von irgend einer Stelle im Präparate mit Bestimmtheit aussagen, ja geradezu als eine Thatsache hinstellen will, vom aufmerksamen und geübten Auge schon in einigen Minuten gesehen werden muss. Sonst sind dem betreffenden Gegenstand entweder unsere Präparationsmethoden oder unsere optischen Hilfsmittel noch nicht gewachsen. Vermuthungsweise kann der Forscher auch solche Beobachtungen mittheilen; vielfach ist er dazu sogar verpflichtet, um die Aufmerksamkeit eines künftigen, besser ausgerüsteten Forschers gerade auf jenen kritischen Punkt zu lenken.

Specieller Theil.



IV. Abschnitt.

Mikromorphologische Behandlung thierischer Organismen ohne chemische Eingriffe.

Ursache und Zweck dieser Richtung der Mikrotechnik. Das Ideal der Mikrotechnik ist, die mikroskopische Erforschung der Organismen und ihrer Bestandtheile in ihrem natürlichen Zustande, das heisst unmittelbar während ihres Lebens, möglich zu machen. Bekanntlich können wir uns diesem Ideale nur bei gewissen, besonders günstigen Objecten etwas nähern; es vollkommen zu erreichen ist uns, heute noch wenigstens, nicht möglich. Wir sind auf chemische Eingriffe angewiesen, welche Kunstproducte hervorrufen, die als Reactionen dienen und uns dazu befähigen, auf im lebenden Zustande des Objectes nicht sichtbare, aber doch vorhandene Eigenschaften und Verhältnisse mit mehr oder weniger Sicherheit zu schliessen. Wie kann man aber eine Reaction verwerthen, wenn man nicht bereits alles kennt, was an dem Gegenstand schon vorher wahrnehmbar gewesen ist? Und ebenso, wie die durch chemische Eingriffe hervorgerufenen Veränderungen, darf in der Mikroskopie jede Veränderung, die am lebenden Object durch fremde Einflüsse veranlasst wurde, bloss als Reaction, welche kritisch geprüft werden muss, Verwerthung finden. Wie ist aber eine Veränderung als solche erkennbar, wenn man den Status quo, das Object während des Lebens nicht kennt? Daher die bereits oft betonte Pflicht des Mikrographen, von welcher ihn keine chemische Fabrik je entlasten wird, das Lebende am Leben zu untersuchen; daher die Wichtigkeit der im folgenden Capitel zu schildernden Mikrotechnik.

Siebentes Capitel.

Untersuchung lebender Organismen und Gewebe ohne mechanische Eingriffe.

§ 19.

Geeignete Untersuchungsobjecte. Aussuchen und Sortiren des Materials vor dem Beobachten.

Eine Untersuchung während des Lebens ist am leichtesten und am vorwurfsfreiesten ohne mechanische Eingriffe auszuführen. Die dazu

nothwendigen Methoden können uns also am besten als Ausgangspunkt zu unseren weiteren kritischen Erörterungen dienen.

Brauchbare Objecte für diesen Zweck sind in erster Linie die mikroskopischen Organismen oder überhaupt diejenigen, von denen wenigstens eine Dimension geringer ist als der Arbeitsabstand der Linsen, mit welchen sich die nothwendige Vergrösserung erzielen lässt. (Protozoën, die mikroskopischen oder genügend platten oder fadenförmigen Repräsentanten der verschiedenen Thierklassen, Embryonen, Larvenformen und Jugendstadien grösserer Thiere.) Dann sind es die miteinander und dem übrigen Körper nicht fest verbundenen Structurbestandtheile von Geweben, von Körperflüssigkeiten oder überhaupt vom Inhalt verschiedener Organe, falls man ersteren dem Organismus entnehmen kann, ohne jene Bestandtheile irgendwie mechanisch zu schädigen. (Blut, Lymphe, Geschlechtsproducte etc.) Endlich sind es Körpertheile, die in dem Organismus so gelegen und beschaffen sind, dass sie, ohne ihren natürlichen Zusammenhang mit dem Organismus ganz aufzuheben, unter das Mikroskop gebracht werden können. (Flossen von Fischen, Zunge, Lunge, Mesenterium und Schwimmhaut des Frosches, Vorniere männlicher Tritonen, Flughaut der Fledermaus u. s. w.) Gemäss der Natur dieser Objecte hat die Mikrotechnik der Untersuchung während des Lebens bei ihnen besonders drei Probleme zu lösen: a) sie überhaupt oder in gehöriger Anzahl in das Gesichtsfeld des Mikroskopes zu bringen; b) ihre Lebensbedingungen während des Uebertragens und unter dem Mikroskop lange genug zu erhalten; c) ihre Structurverhältnisse künstlich auffälliger zu machen.

Ueber den ersten Punkt müssen wir uns ganz kurz fassen und auf diesen und den folgenden Paragraphen beschränken. Manches, was sonst in engem Zusammenhang mit den hier zu berührenden Methoden steht, würde nicht mehr in den Rahmen dieses Buches hineinpassen, so die Beschaffung, der Fang von mikroskopischen Organismen und ihre Behandlung in der Gefangenschaft, damit sie möglichst lange ein lebensfrisches Untersuchungsmaterial liefern u. s. w.

Selbständige Organismen muss man zunächst aus den grösseren Behältern, welche, den natürlichen Existenzbedingungen der betreffenden Thiere möglichst entsprechend eingerichtet, zu ihrer Aufbewahrung vor dem Verarbeiten dienen, in kleinere Glasdosen oder Uhrgläser u. dergl. übertragen.

Zum **Uebertragen** nimmt man dickere oder dünnere Glasröhren, Pipetten mit oder ohne Saugvorrichtung (Kautschukkappe),

Spatel, Pinsel oder Pincetten, eventuell auch Nadeln und endlich zweckmässig geformte Siebe oder Netze.

Cylindrische Glasgefässe mit **Auftrieb** werden auf eine höhere Unterlage gegen das Licht gestellt, damit man den Inhalt in horizontaler Richtung durchschauen und so kleinere, durchsichtige Gegenstände leichter wahrnehmen kann. Hat man nun ein Object ins Auge gefasst, so wird das untere Ende einer Glasröhre, deren oberes Ende man mit dem Zeigefinger vorher verschlossen hat, damit das Wasser nicht hineindringe, in seine Nähe gebracht und die obere Oeffnung im geeigneten Moment gelüftet. Das Wasser, welches nun in die Röhre hineindringt, reisst das Object mit sich. So kann man dieses, falls man die obere Oeffnung mit dem Finger wieder zudrückt und das Wasser aus der Röhre nicht herauslaufen lässt, am schonendsten aus dem grossen Gefäss herausheben und in das kleine hineinlassen. Wenn möglichst wenig Flüssigkeit mit dem Object übertragen werden soll, so lässt man es vor dem Lüften der Röhre ganz bis zur unteren Oeffnung sinken und drückt die obere sofort, nachdem es herausgetreten ist, wieder zu. Damit Objecte, welche uns interessiren würden, nicht am Boden des Auftriebcylinders, wo sie eventuell hinuntergesunken sind, unbemerkt bleiben, rühren wir den Inhalt mit der Glasröhre beim Durchmustern gelegentlich um.

Zum Uebertragen einer Anzahl kleiner **Thierchen,** welche **zwischen Wasserpflanzen,** Conferven und dergl., leben, genügt es oft, etwas von den letzteren mit einer Pincette zu fassen und in der kleinen Glasdose in Wasser einigemal hin- und herzuschwenken, einige Secunden liegen zu lassen und dann langsam wieder herauszuheben. Manchmal muss man sie erst auf dem flachen Boden einer Glasschüssel ausbreiten und so durchmustern.

In derselben Weise sucht man sein **Material aus dem Sand, Schlamm** und anderen **Bodensatz** aus. Kleine Portionen von diesem werden in einer möglichst dünnen Schicht, unter nicht viel Wasser, ausgebreitet und die wahrgenommenen Objecte mit einer Pipette, Pincette oder einem Pinsel in die Glasdose oder den Glasnapf voll reinen Wassers übertragen.

Man kann auch mit einer Pincette sogar sehr zarte Objecte so fassen, dass sie gar nicht leiden, man braucht sie nämlich überhaupt nicht zu berühren, denn die Adhäsion des Wassers zwischen den Schenkelenden des Instrumentes genügt, um schwebende Gegenstände beim Herausheben festzuhalten. Dieses schonende Fassen gelingt bei länglichen, dünnen Objecten am leichtesten, bei kugeligen am schwersten. Solche fasst man, falls es auf die Menge der mit übertragenen Flüssigkeit, wie hier, nicht ankommt, mit einer

etwas länger ausgezogenen Pipette von entsprechender Oeffnung; soll dagegen möglichst wenig Flüssigkeit mit, wie es beim Auflegen des Untersuchungsobjectes auf den Objectträger oft angezeigt ist, so sind die empfehlenswerthesten Instrumente der Federpinsel und eine feine Drahtschlinge, auf welche wir gleich zurückkommen werden.

Falls **kleinere Gegenstände in viel Flüssigkeit** vertheilt sind, und man sie davon nicht einzeln heraussuchen kann oder will, sie aber doch in grösserer Anzahl auf einen geringeren Raum zusammenbekommen muss, so ist dafür die einfachste Methode, die Flüssigkeit, ganz oder bis auf einen gewissen Rest, durch ein Sieb zu treiben, dessen Oeffnungen kleiner sind, als der kleinste Durchmesser der Objecte, die man zu sammeln hat. Diese können dabei entweder in dem Sieb oder in dem Gefäss, wo sie waren, zurückbleiben, aber nur noch von der unumgänglichen Menge von Flüssigkeit bedeckt.

Von dem Sieb werden natürlich sämmtliche Objecte mit zurückgehalten, welche grösser oder so gross sind, wie die zu untersuchenden. Ein nochmaliges Durchsieben durch ein Sieb, dessen Oeffnungen nur etwas grösser als die grösste Dimension der Untersuchungsobjecte sind, hält die grösseren zurück. Dazu muss man jedoch den Inhalt des ersten Siebes zunächst in ein anderes, kleineres Gefäss mit dem natürlicheu Medium des Untersuchungsmaterials entleeren, um ihn dann in das zweite Sieb zu giessen.

Viel einfacher und schonender gestaltet sich das Verfahren beim Sammeln und Sortiren solcher Gegenstände durch die sogenannten **Auftriebsiebe** von CORI [1] [1]. Die Siebe sind hier Glasröhren, von wel-

---

[1]) In dem von CORI vorgesehenen Fall, wo es sich um das Sortiren und Reinigen von Auftriebmaterial überhaupt handelt, ist das Verfahren etwas anders als in unserem Fall, wo wir ein bestimmtes Object von ungefähr bekannter Grösse zu sammeln haben. CORI combinirt auf einmal blos je zwei Siebe, von welchen das äussere stets mit der Gaze von der feinsten Nummer überspannt ist. Die Thiere, welche sich in diesem sammeln, müssen zum weiteren Sortiren mittels weiter Pipette immer wieder in ein neues Siebpaar übertragen werden (p. 307). Einfacher und schonender wäre es, die nothwendige Anzahl von Sieben alle auf einmal (meist genügt ein Satz von 5 Nummern, successive kürzeren Sieben mit weiteren Maschen) ineinander zu stecken. Bei der Dünne des Glases, aus welchem die zu den Sieben gebrauchten Röhren gemacht werden können, müsste deshalb auch das äusserste nicht besonders gross sein. Ich meinerseits verfahre in der weiter unten vorgeschlagenen Weise. — Fertige Auftriebsiebchen nach CORI bekommt man bei Dr. G. GRÜBLER & Co. (Leipzig, Bayersche Strasse 63): ein Siebchen gebrauchsfertig in 2 Grössen für 40, beziehungsweise 30 Pfg., einen grossen Satz mit 9 Siebchen für Mk. 2·50, einen kleinen von 5 Nummern für Mk. 1·80. — Seidenbeutel-

chen ein Ende mit „Seidenbeuteltuch-Mehlgaze" (Müller-Gaze) überspannt ist; das Sieb mit den weiteren Maschen wird in das mit den engeren hineingeschoben. Das innere Sieb hält Gegenstände, welche grösser sind als die Untersuchungsobjecte, zurück, das äussere dagegen entfernt die kleineren, indem es sie mit der Flüssigkeit durchlaufen lässt.

Die Flüssigkeit (meist wohl Wasser) mit dem Untersuchungsmaterial giesst man in der Weise durch das Doppelsieb, dass man letzteres mindestens so tief in ein grösseres Gefäss mit dem betreffenden Medium hineinhält, dass die vom äusseren Sieb zurückgehaltenen Objecte nicht trocken werden. Hat man bereits genug Objecte im äusseren Sieb, so nimmt man das innere, ohne das äussere aus der Flüssigkeit herauszuheben, weg und schöpft vom Material so viel als nothwendig mit einer weiten Pipette in das kleine Gefäss. Will man aber das Ganze zur Untersuchung benutzen und nichts davon verlieren, so steckt man das Sieb, bevor man es heraushebt, in eine Glasdose, wo sein unteres Ende gerade und tief genug hineingeht, indem man die Dose in der Flüssigkeit von aussen auf das Sieb schiebt.

Ich benutze in der Regel die in Figur 1 halb schematisch dargestellte Einrichtung von **Siebcylindern,** womit man sehr rasch zum Ziele kommt.

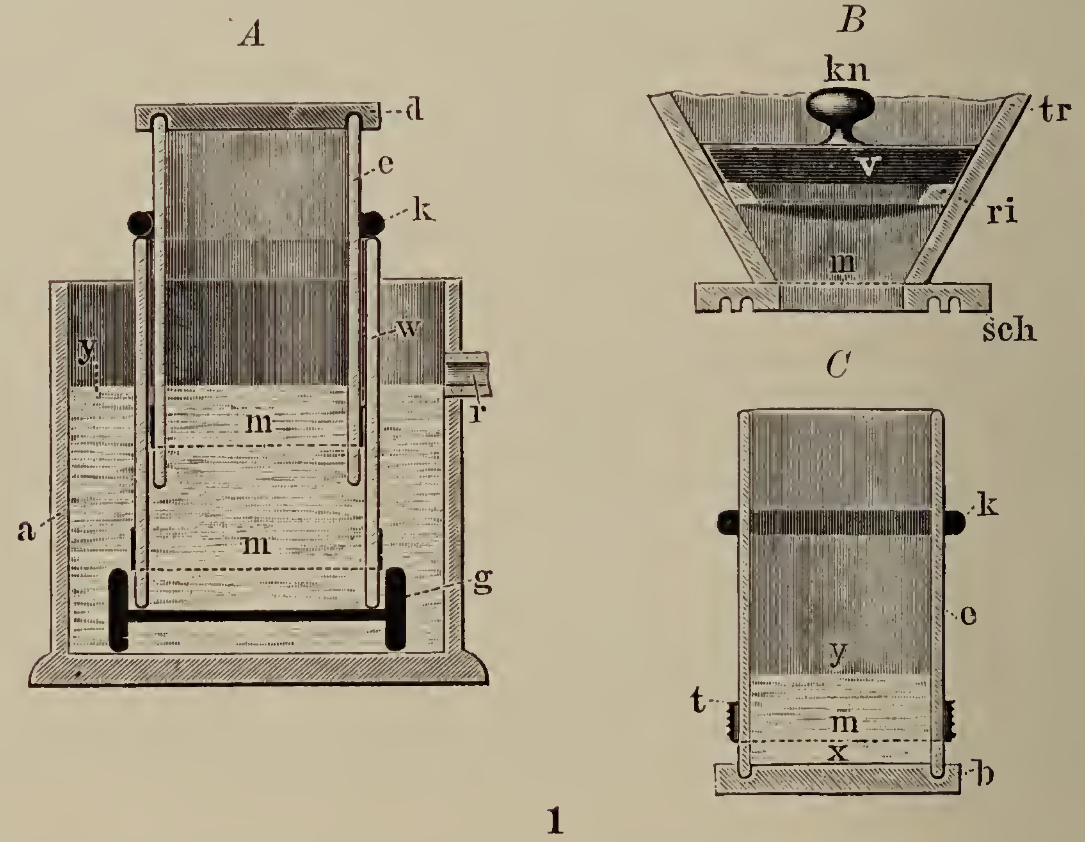
Figur 1 A ist ein grösseres Glasgefäss mit einem Abflussrohr *r* in der Höhe, dass der Boden sowohl des äusseren weiteren Siebcylinders *w*, als auch des engeren inneren *e* constant unter Wasser bleibt. Vor dem Eingiessen des Wassers mit dem Untersuchungsmaterial in den Cylinder *e* wird das Gefäss *a* mit Wasser (Seewasser) gefüllt. Der äussere Siebcylinder *w* steht am Boden des Gefässes *a* auf einem soliden Drahtdreifuss. Der innere Siebcylinder *e*, welcher bequem in *w* hineingesteckt werden kann, reicht nicht bis zum Boden des letzteren, sondern wird durch einen Draht- oder Kautschukring vor dem Eingleiten in *w* verhindert und in einer beliebigen Höhe gehalten. Beide Siebcylinder bestehen aus zwei Röhrenstücken, von welchen das untere 1/2 oder 1 cm

---

tuch-Mehlgaze, welche in der Mikrotechnik auch anderweitig vielfache Verwendung finden kann, liefert in vorzüglicher Qualität die Firma DUFOUR & Co. in Thal, Canton St. Gallen. Sie führt 24 Nummern, die gröbste ist No. 0000, die feinste No. 20. Eine grössere Reihe von Sieben stelle ich mir aus den folgenden 9 Nummern zusammen: No. 0000 mit (im Durchschnitt und in runden Zahlen ausgedrückt) 200 μ dicken Fäden in 1250 μ Entfernung von einander (Preis Fr. 4·40 pro Meter bei 102 cm Breite), No. 00 mit 150 μ dicken Fäden in 650 μ Entfernung (Fr. 4·70), No. 1 mit 120 μ dicken Fäden in 400 μ Entfernung (Fr. 5·05), No. 4 von 120 μ Fadendicke und 300 μ Maschenweite (Fr. 5·65), No. 8 von 100, resp. 200 μ (Fr. 6·50), No. 10 von 80, resp. 150 μ (Fr. 7·75), No. 14 von 50, resp. 120 μ (Fr. 10·85), No. 16 von 80, resp. 100 μ (Fr. 13), No. 20 von 80, resp. 70 μ in der einen, 80 μ in der anderen Richtung (Fr. 18·10). In dieser Reihe sind die verschiedenen Maschenweiten gleichmässiger abgestuft, als in der von CORI ([**1**] p. 306) vorgeschlagenen (No. 000, 0, 2, 4, 6, 8, 10, 17, 20). Zu einem kleinen, aber beinahe immer hinreichenden Satz von 5 Nummern nehme man 0000, 1, 8, 14 und 20.

das obere 5 oder 8 cm lang ist. Das untere Ende der längeren Stücke ist mit der nöthigen Nummer von Müllergaze (*m* in Figur I) überspannt, und das kürzere Stück nachträglich angeklebt. (Die entsprechenden Kanten sind platt abgeschliffen und passen genau aufeinander. Ich verbinde sie mit einander durch einen etwa 1 cm breiten Streifen starken Tülls, welchen ich mit Chromgelatine von aussen rund herum auf das Glas klebe.) Der obere und der untere Rand von beiden Siebcylindern ist in der Weise abgeschliffen, dass sie in eine eingeschliffene Ringfurche je einer Spiegelglasscheibe hineinpassen, wodurch ein luftdichter Verschluss bewirkt wird (Deckelscheibe *d* in A und Bodenscheibe *b* in C).

Man braucht blos die luftdicht schliessende Deckelscheibe des betreffenden Siebcylinders aufzulegen (der grösseren Sicherheit wegen beschmiere man die Ringfurche mit etwas Vaselin) und man kann ihn sammt der über dem



Figur 1. Der Siebcylinder (ungefähr 1/2 natürl. Grösse des kleineren Formats. Der Holzschneider hat sich nicht genau an die angegebenen Dimensionen gehalten.) A der Apparat zusammengestellt, mit Deckelscheibe *d* anstatt des Ansatz-Trichters B.—C. der innere (engere) Cylinder *c* auf seine Bodenscheibe *b* gestellt: *y* Niveau des Wassers, *x* der Raum zwischen dem Diaphragma von Müllergaze und der Bodenscheibe. *a* äusseres Gefäss mit Abflussrohr *r*. *k* Kautschukring; *w* äusserer (weiterer) Siebcylinder. *g* Gestell (Metalldreifuss); *tr* Wand des Ansatztrichters (blos der untere Theil dargestellt); *kn* Knopf zum Fassen, *v* Verschlussplatte, *ri* Glasring, *sch* Bodenscheibe des Trichters mit zwei Ringfurchen. *m* Müllergaze.

Netzdiaphragma befindlichen Flüssigkeitssäule in die Höhe heben und transportiren, ohne dass ein Tropfen Flüssigkeit herausrinnt, einerlei, ob die Flüssigkeitssäule mehrere Centimeter oder blos einige Millimeter hoch ist, und wenn auch die Maschen der Gaze ziemlich weit sind (z. B. 1 1/4 mm, wie bei Nr. 0000 der DUFOUR'schen Müllergaze, ja sogar noch weiter). Es versteht sich wohl von selbst, dass man dabei den Cylinder lieber möglichst senkrecht halten soll, indessen braucht man beim Transportiren gar nicht besonders ängstlich zu sein, denn wenn man auch den Cylinder bis zu einer gewissen Grenze nach der einen oder der anderen Seite neigt, so fliesst das

Wasser doch nicht heraus. Stellt man andererseits den Cylinder auf die ebenfalls luftdicht schliessende Bodenscheibe (wie in C), so kann man die Deckelscheibe entfernen, ohne dass die Flüssigkeit durch das Netz in den unteren, mit Luft gefüllten Raum *x* hinunterfliessen würde. Dadurch wird es überflüssig, den Inhalt des Siebcylinders vor dem Bearbeiten noch in ein anderes Gefäss zu übertragen[1].

Bei B in Figur 1 ist ein Trichter-Ansatz zum bequemeren Eingiessen des Wassers in die Siebcylinder abgebildet. Bei dieser Einrichtung ist er nicht unumgänglich nothwendig, wohl aber bei der gleich zu beschreibenden Siebsäule, welche in Figur 2 abgebildet ist. Er besteht aus einer Spiegelglasscheibe *sch*, welche auf der unteren Fläche zwei concentrische eingeschliffene Ringfurchen trägt, damit sie sowohl auf den engeren Cylinder *e*, als auch auf den weiteren *w* aufgelegt werden kann und auf beiden luftdicht schliesst. In der Mitte der Scheibe befindet sich ein kreisförmiges Loch von etwa 2 oder 3 cm Durchmesser, welches oben mit Nummer 0000 der Müllergaze überspannt ist. Darüber ist ein Glastrichter *tr* aufgekittet, dessen unteres Ende so weit abgetragen und abgeschliffen ist, dass seine untere Mündung gerade auf das Loch in der Scheibe *sch* passt. An die innere Wandfläche des Trichters ist ein etwa ½ cm breiter Spiegelglasring *ri* einige Centimeter über der Scheibe *sch* in genau horizontaler Lage befestigt. Auf diesen Ring passt eine herausnehmbare starke, etwa 1 cm dicke Spiegelglasscheibe mit Knopf *kn* zum Fassen und bewirkt ebenfalls einen luftdichten Verschluss. Die Verschlussplatte *v*. sammt dem Ring *ri* kann indessen hier auch fehlen; unumgänglich nothwendig ist sie aber bei der Siebsäule in Figur 2.

Man halte sich Siebcylinder mit 9 oder wenigstens 5 Nummern von Müllergaze vorräthig (s. die von mir empfohlenen Nummern in der Anmerkung zu Seite 213). Falls man in die Lage kommt, sogar so kleine Organismen sammeln zu müssen, die von den Maschen der feinsten Müllergaze (No. 20 der DUFOUR'schen Seidenbeuteltuchgaze, mit 70-80 μ weiten Maschen in trockenem, aber kaum 50 μ weiten im durchfeuchteten Zustande, wo die Fäden etwas quellen) durchgelassen werden, so muss der äussere Cylinder mit gehärtetem Filterpapier (geliefert von SCHLEICHER & SCHÜLL in Düren, Rheinland), und aussen noch mit Müllergaze, damit das Papier nicht durchreisst, fest überspannt werden. Ich benutze zwei Formate von Siebcylindern, nämlich solche mit inneren Cylindern von 4½ und von 2½ cm innerem Durchmesser,

---

[1]) Natürlich kann man auch die Fixirungsflüssigkeit, wenn man das Material nicht mehr lebend untersuchen will, vorsichtig hinzugiessen, den Inhalt des Cylinders sogar umrühren und auch die folgenden Manipulationen in demselben vornehmen, wie es im nächsten Abschnitt auseinandergesetzt werden soll. So kann man eine verhältnissmässig grosse Menge von Auftriebmaterial mit einem noch geringeren Aufwand von Reagentien als nach den CORI'schen Vorschlägen ([1] p. 307-308) verarbeiten, da ja auch die im Sieb mitgenommene Wassermenge beliebig klein genommen werden kann, indem man die Deckelscheibe erst dann aufzulegen braucht, wenn der Siebcylinder schon so weit aus dem Gefäss *a* (in A Figur 1) herausgehoben ist, dass die Objecte eben noch unter Wasser sind.

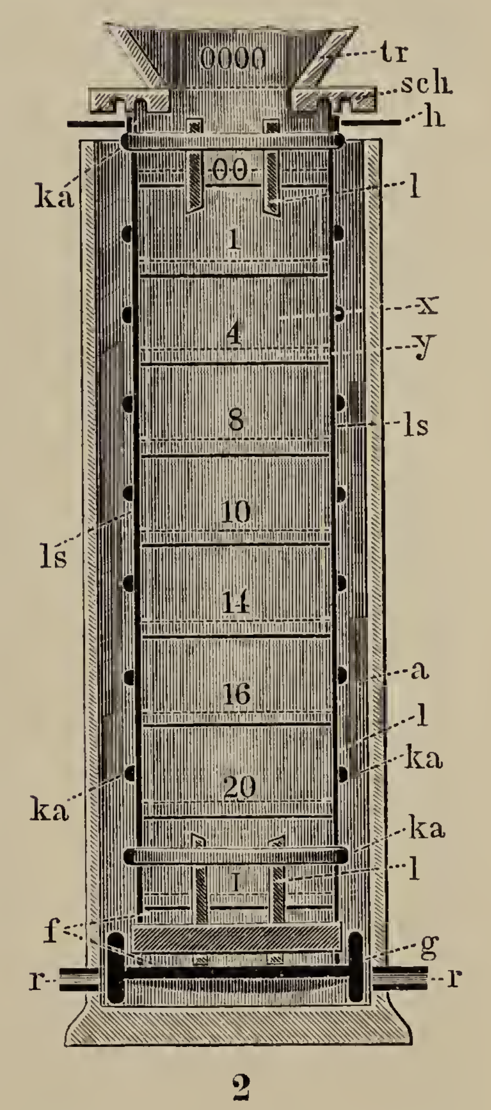
erstere aus 3, letztere aus 2 mm dickem Glas, bei den oben bereits angegebenen Längen.

Zum **Sortiren eines gemischten Auftrieb-** oder anderen **Materials** in Wasser muss man bei der eben beschriebenen Einrichtung natürlich successive verschiedene innere Siebcylinder mit zwei gleichen äusseren, welche entweder mit No. 20 der Müllergaze oder mit gehärtetem Filtrirpapier überspannt sind, combiniren. Beim ersten Durchlaufenlassen des Wassers, wobei man den inneren Cylinder mit der Gaze von den weitesten Maschen benutzt, werden einerseits durch den letzteren die grössten Gegenstände zurückgehalten und gesammelt, andererseits aber wird das gesammte übrige Material im äusseren Cylinder in eine geringe Flüssigkeitsmenge concentrirt. Nun legt man die Deckelscheibe (*d* in Figur 1 A) des inneren Cylinders auf (nachdem man letzteren eventuell etwas gehoben hat, damit man weniger Wasser mitnimmt), hebt ihn aus dem Gefäss und stellt ihn auf seine Bodenscheibe (*b* in Figur 1 C) bei Seite. Dann hebt man in derselben Weise den äusseren Cylinder (*w* in Figur 1 A) heraus und stellt ihn ebenfalls auf die entsprechende Bodenscheibe, welche auf einer mehrere Centimeter über dem Niveau des Tisches befindlichen Spiegelglasplatte liegt. Man muss nämlich, wenn man das Material weiter sortiren will, die äusseren Cylinder sammt ihrer Bodenplatte nach Entfernen der Deckelscheibe wieder aufheben und entleeren, und dieses gelingt, ohne die Bodenscheibe zu lüften, wodurch der Inhalt unten herausfliessen würde, leichter, wenn man den Cylinder an den Rand der Spiegelglasplatte, auf welcher er sanft hinweggleitet, schiebt, die Bodenscheibe, die etwas (Figur 1 C) hervorsteht, seitlich und von unten gleichzeitig mit dem Cylinder fasst und beide gegeneinanderpresst. Vorher hat man aber in das Gefäss *a* den zweiten äusseren Cylinder *w* hineingestellt und in diesen den in der Reihe folgenden inneren *e*, wohin der Inhalt des ersten Cylinders *w*, den man von der Spiegelglasplatte aufheben wird, zum weiteren Sortiren hineinzugiessen ist. So wiederholt sich die Procedur, bis sämmtliche inneren Cylinder der Reihe nach mit dem in ihnen zurückgehaltenen Material bei Seite gestellt sind und der äussere Cylinder blos die allerkleinste Sorte enthält. In dieser Weise wird das langweilige Uebertragen des Materials von einem Sieb in das andere mittels einer weiten Pipette, wie es bei Cori's Auftriebsieben nothwendig ist, vermieden und das Verfahren überhaupt sehr vereinfacht.

Aber noch viel rascher geht das Sortiren von statten mit der in Figur 2 abgebildeten **Siebsäule,** welche ich in sämmtlichen Fällen, wo das Material nicht mit feinem Schlamm oder dergleichen gemengt ist,

wodurch das Sieben ins Stocken gerathen könnte, anderen ähnlichen Einrichtungen bei weitem vorziehe.

Die Siebsäule besteht aus einer grösseren oder geringeren Anzahl (9 oder 5) von Röhrenabschnitten, unten mit Müllergaze überspannt, viel besser aber aus kürzeren Siebcylindern, aus zwei Glasringen, x und y, zusammengeklebt, wie die in Figur 1 C, welche aufeinandergelegt auf einem Fussstück f stehen und zu einer Säule zusammengehalten werden. Auf die Säule kommt der Ansatz-Trichter *tr*, und das Ganze steht auf einem soliden niedrigen Metalldreifuss in einem engen Cylindergefäss a, welches unten mit 2-3 weiten Ausflussröhren mit Hahn versehen ist, damit man das Wasser je nach Bedarf sehr rasch oder langsam herauslassen kann.



2

Die Siebsäule (ungefähr 1/4 natürliche Grösse. Der Holzschneider hat sich nicht genau an die angegebenen Dimensionen gehalten). Schematischer Längsschnitt; blos das untere und obere Ende der Säule, mit Ausnahme des Ansatz-Trichters *tr*, von vorne gesehen, um die Befestigung der Fischbeinleisten l zu zeigen. g Gestell (Metalldreieck). r Ausflussröhre, f Fussstück, wo die Fischbeinleisten angebunden sind, *ka* Kautschukringe. h Henkel an den seitlichen Fischbeinleisten zum Herausheben der Säule. *sch* Bodenscheibe des blos angedeuteten Ansatztrichters (s. Fig. 1 B), *ls* die seitlichen Fischbeinschienen. Die Diaphragmen von Müllergaze sind die punktirten Linien mit der Nummer der betreffenden Gaze-Sorte. x der obere, höhere, y der untere, niedrigere Glasring, aus denen die einzelnen Siebstücke bestehen.

Die Röhrenstücke des grösseren Formats, das ich gebrauche, sind 4½ cm weit und 2½ cm lang, wovon auf den unteren Ring blos 4-5 mm kommen, ihre Wand 3 mm dick. Jedes Stück ist am unteren und oberen Rande so abgeschliffen, dass es mit einer Boden- resp. Deckelscheibe aus Spiegelglas, wie bei den oben beschriebenen Siebcylindern, luftdicht verschlossen werden kann. Sie sind in Figur 2 mit der Nummer der Müllergaze, mit welcher sie überspannt sind, bezeichnet. Das unterste Stück I ist entweder ein einfacher Glasring und dann gar nicht, oder wie die übrigen und dann mit Filtrirpapier in der p. 215 erwähnten Weise überzogen. Das Fussstück f ist ein oben platt und unten wie die Siebcylinder zum Hineinstellen in die Ringfurche einer Bodenscheibe abgeschliffener ähnlicher, aber nur 1 cm hoher Glasring. Auf diesem Ring befestige ich in verticaler Lage (mit Tüllstreifen, Zwirnfaden und Chromgelatine) 6 Fischbeinschienen l und *ls*, welche bis nahe an den oberen Rand des obersten Siebstückes 00 reichen. An jedes Siebstück sind sie durch je einen aussen auf die Schienen gezogenen Kautschukring *kr* von rundem Durchschnitt (welcher auf den Schienen leichter auf- und abzurollen ist, als ein platter Ring) befestigt, wodurch die einzelnen Bestandtheile der Säule zusammengehalten werden und, besonders wenn man die Ränder der Siebstücke mit etwas Vaselin be-

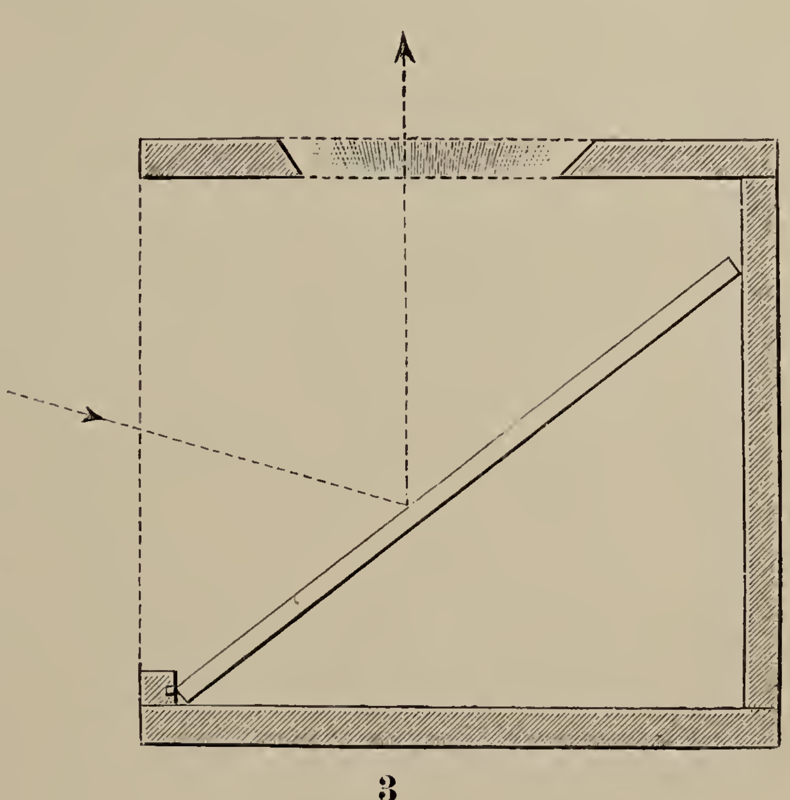
streicht, luftdicht schliessen. Oder aber man bestreicht die Linien, wo die Siebstücke aneinanderstossen, so lange sie noch nicht nass sind, mit einer mitteldicken Celloidinlösung (z. B. durchtränkende Lösung II), wodurch die Vereinigung fester und das luftdichte Schliessen noch sicherer wird, ohne das Auseinandernehmen der Säule zu erschweren.

Nun wird die zusammengestellte Säule in das Gefäss *a*, dessen Rand blos bis zur Mitte des obersten Siebstückes reichen soll, damit man die Säule leicht an den Flügeln *h* der seitlichen Fischbeinschienen fassen und herausheben kann, in Wasser gesenkt, welches von unten allmählich eindringt und alle Luft aus den Siebstücken verdrängt. Nachdem dieses geschehen ist, legt man die Deckelscheibe von 00 auf, hebt die Säule aus dem Gefäss und stellt sie auf die Bodenscheibe des Fussstückes *f* auf einer Spiegelglasplatte. Jetzt wird die Deckelscheibe von 00 durch den Ansatztrichter ersetzt, dessen Bodenöffnung mit Müllergaze Nr. 0000 überspannt ist, und man füllt auch den Trichter bis zum Ringe *ri* in Fig. 1 B mit Wasser und legt die Verschlussscheibe *v* ein. So kann man die Säule, sie wieder bei 00 fassend, ohne die Bodenscheibe in senkrechter Richtung abermals aufheben, um sie zurück in das Gefäss *a* zu stellen, dessen Ausflussröhren nun geöffnet werden. Erst jetzt giesst man das Wasser mit dem Material in den noch verschlossenen Trichter. Ist er voll — ich benutze einen Trichter von 1/2 Liter Capacität —, so lüftet man die Verschlussscheibe *v*, und das Sieben beginnt. Sobald das Niveau des Wassers im Trichter bis zum Ringe *ri* sinkt, legt man die Verschlussplatte, welche immer bei der Hand sein muss, wieder ein, füllt den Trichter von Neuem und setzt erst dann das Sieben wieder fort. Wenn das Stück I mit gehärtetem Filtrirpapier überzogen ist, so geht das Wasser so langsam durch die Säule, dass diese Vorsichtsmaassregel nicht nothwendig ist; man hat Zeit, einfach nachzugiessen. Ist aber I mit nichts überzogen, so fliesst das Wasser so rasch durch, dass man nicht genug aufpassen kann, um die Verschlussscheibe nicht zu spät einzulegen und die obersten Siebe nicht leer werden, die von ihnen zurückgehaltenen Objecte nicht aus dem Wasser kommen zu lassen; ist dieses doch geschehen, so kann man die Säule nicht wieder vollständig füllen, ohne sie erst auseinander zu nehmen. Desshalb ist es in jedem Fall besser, ja allein anzurathen, das unterste Röhrenstück I (in Figur 2) immer mit Filtrirpapier und Gaze zu überspannen, aber in das Filtrirpapier einige kleinere oder grössere Löcher zu machen, je nachdem ein langsamerer oder rascherer Durchfluss erwünscht ist.

Mit der Siebsäule kann man eine grosse Menge Auftriebmaterial sehr rasch bewältigen. Hat man die letzte Portion in den Trichter gegossen, so legt man die Verschlussscheibe *v* im angegebenen Moment besonders sorgfältig ein, hebt die Säule aus dem Gefäss *a*, stellt sie auf die Bodenscheibe des Fussstückes und kann sie nun auseinandernehmen. Den Trichter mit den grössten Objecten, die er gesammelt hat, stellt man auf eine mit Vaselin bestrichene Spiegelglasplatte und kann ihn wie die anderen Siebstücke weiter behandeln. Diese werden, nachdem man den Kautschukring des betreffenden Stückes

nach oben abgerollt hat, mit ihrer Deckelscheibe bedeckt, einzeln abgehoben und, wenn sie aus einem Glasring bestehen, auf eine Glasplatte, wenn sie, wie die Siebcylinder in Figur 1 aus zwei Ringen zusammengekittet sind, auf die entsprechende Bodenscheibe gestellt. Will man im ersten Fall ihren Deckel abnehmen, so müssen sie natürlich erst in eine Glasdose mit Wasser gestellt werden, im letzteren Falle (Figur 2) ist, ebenso wie bei den Siebcylindern, kein besonderes Gefäss nöthig. Sie können, indem sie einfach auf ihrer Bodenscheibe stehen, geöffnet und weiterbehandelt werden. So ist der Apparat vollkommener, allerdings ist er schwieriger als mit den einfachen Siebstücken zu verfertigen.

Noch schonender als die geschilderten, aber von mehr beschränkter Anwendbarkeit ist das Verfahren, wo das Untersuchungsmaterial in dem besser nicht mehr zu grossen Gefäss, in dem es sich bereits befindet, zurückbleibt und blos das Wasser mittels einer Pipette durch ein Sieb gesogen wird, bis die Objecte gerade noch bedeckt sind[1]. Will man diese gleich dort durchmustern, so sei das Gefäss eine flache Glasdose mit ebenem Boden, welche beim Durchsuchen je nachdem auf weissen oder schwarzen Grund (z. B. Papier) oder auf den Durchleuchter (Figur 3) zu stellen ist[2].



3

Durchleuchter (Senkrechter Durchschnitt). Der Pfeil giebt die Richtung der beleuchtenden Lichtstrahlen an. (Nach Obersteiner [2] (p. 56)

---

[1]) Ein solches Verfahren empfiehlt u. a. J. Levick [1] für Volvox, um sie in grösserer Anzahl zusammen zu bekommen.

[2]) Eine genaue Beschreibung dieses auch Schnittsucher genannten sehr nützlichen kleinen Apparates von Obersteiner (2) 1886, richtiger von Ranvier (2) 1875 (s. weiter unten), den sich jedermann leicht selbst herstellen kann, befindet sich bei Behrens-Kossel-Schiefferdecker (Bd. I p. 107), wohin wir den Leser verweisen, da wir hier die Beschreibung von bereits bekannten und allgemein verbreiteten mikrographischen Werkzeugen möglichst vermeiden wollen. Bei Stirling ([1] p. 27) und anderen ist ein ähnlicher Apparat unter dem ursprünglichen, von Ranvier gegebenen Namen „Photophore“ angeführt und abgebildet.

Soll dagegen das Material zunächst in möglichst wenig Wasser concentrirt werden, so nimmt man eine Glasdose, deren Boden gegen die Mitte zu kraterförmig vertieft ist. Und geht man beim Entfernen des Wassers etwas vorsichtig vor, damit man die Peripherie des Bodens nicht zu rasch trocken lege, so wird man sämmtliches Material an der tiefsten Stelle im Centrum versammelt finden.

§ 20.

Betäuben und Sedimentiren des Materials zum bequemeren Durchmustern. Ueber die Gefässe dazu.

Weitere Methoden, um das lebende Untersuchungsmaterial an bestimmten Stellen des Behälters in grösserer Menge zu sammeln, sind folgende.

Erstens kann man es **narkotisiren,** damit die specifisch schwereren Organismen, welche blos ihre Activität schwebend erhielt, zu Boden sinken, wo sie leichter zu finden und herauszuholen sind. Oft ist dazu eine eigentliche Narcotisation, welche man, wenn nur möglich, überhaupt lieber vermeidet, gar nicht nothwendig: es genügt eine **Erniedrigung der Temperatur** des Wassers[1], z. B. durch Umgeben des Gefässes mit Eis, oder Einlegen von Eisstückchen in dasselbe. Nachdem man so die Organismen in genügender Menge in das kleine Gefäss vorläufig mit etwas mehr Wasser übertragen hat, braucht man es blos allmählich wieder auf eine höhere Temperatur zu bringen (an die Sonne oder im Winter in die Nähe des Ofens zu stellen), damit sich die Organismen von dem Boden, wo sie vielleicht in Schmutz eingehüllt gewesen sind, emporheben und so gereinigt mit einer Pipette in ein anderes kleines Gefäss befördert werden können. Weniger vorwurfsfrei ist die Betäubung durch **Erhöhung der Temperatur** des Wassers über das Normale (nie mehr, als gerade genügt), eventuell mit **Sauerstoffmangel** verbunden. (Der ganz volle und nicht zu grosse Behälter, in welchem sich keine chlorophyllhaltigen, die übrigen mit Sauerstoff versorgenden Organismen vorhanden sind, wird gut verschlossen und z. B. an die Sonne gestellt[2].) Von anderen Betäubungsmitteln ist für unseren gegenwärtigen Zweck **Cocaïn** am besten. Es wird etwas von einer concentrirten, z. B. 20proc. Lösung (für Seethiere in Seewasser gelöst: s. im V. Abschn.) vorsichtig, tropfenweise unter stetem Umrüh-

[1] Dieses Verfahren ist von Levick [1] besonders für Volvox empfohlen worden.

[2] Ein sehr altes Verfahren, bereits von Ehrenberg (p. XVII) bei Infusorien und Rotatorien practizirt (s. weiter oben p. 49).

ren in das Wasser gegossen. Nach den ersten Tropfen wartet man eine Zeit lang, ob die Thiere nicht schon anfangen, zu Boden zu sinken, ehe man noch einen weiteren Tropfen hinzufügt. Das bereits zu Boden gesunkene Material wird sofort in einen kleinen Glastrichter mit verschlossener Ausflussöffnung übertragen, wo es sich am Ende der Ausflussröhre sammelt. Nun wird das Wasser aus dem Trichter bis auf einen geringen Rest, welcher das Material gerade bedeckt, vorsichtig abgegossen und frisches zugegossen. Dieses wiederholt man, bis die Objecte anfangen, sich zu bewegen. Dann entfernt man noch einmal rasch das überflüssige Wasser, hält das Ende des Trichters in ein kleines Glasgefäss in frisches Wasser und lässt das Material hineinlaufen. Anstatt Cocaïn kann man in derselben Weise auch Chloralhydrat benutzen. Nach Betäubung mit Chloroform oder Aether genügt es, diese aus dem flachen Gefäss, wo man sein Material durchmustern will, einfach von selbt verdunsten zu lassen, eventuell einigemal umzurühren, damit die Thiere wieder zu sich kommen, was aber keineswegs so sicher wie nach Cocaïn- oder Chloralbehandlung erfolgt[1].

Sehr oft setzt sich das Untersuchungsmaterial (z. B. Elemente von verschiedenen Körperflüssigkeiten) von selbst, wenn man ihm zu diesem **Sedimentiren** (in vertical stehenden längeren Probirröhren mit concavem Boden oder trichterförmigen Gefässen) Zeit lässt. Beschleunigen kann man es dadurch, dass man den Behälter (es giebt eigens dazu construirte Tuben) in einen Centrifugalapparat stellt. (Sehr praktisch ist der Apparat von Litten [**1**] 1891.)

Endlich kann man eine active Ansammlung mikroskopischer Thierchen an einer gewissen Stelle des Behälters durch stärkeres **Belichten** von dieser bewirken, z. B. so dass man diese Stelle directen Sonnenstrahlen aussetzt, das übrige Gefäss aber beschattet, z. B. mit schwarzem Papier umgiebt[2].

Die dem lebenden Organismus entnommenen Elemente oder Körpertheile, welche in Zusammenhang damit untersuchbar sind, werden am besten direct auf den Objectträger gebracht. Objectträger im weitesten Sinn nennen wir nämlich jede Vorrichtung, welche das Untersuchungs-

---

[1]) Ganz andere Ideen leiten uns natürlich bei jener Verwendung der Betäubungsmittel, welche sehr oft der Fixirung unmittelbar vorausgehen muss. Diese wird erst im V. Abschnitt behandelt.

[2]) Schon Ehrenberg (p. XVI) giebt den Rath, Infusorien in einem Uhrglas so auf eine halb weisse, halb schwarze Unterlage zu stellen, dass die eine Hälfte des Uhrglases auf den schwarzen, die andere auf den weissen Grund komme. „Meist sammeln sich die kleineren Formen, wenn sie zahlreich sind, an der Lichtseite des Wasserrandes im Uhrglase“.

object in der Weise enthält oder trägt, dass es dem Mikroskop zugänglich wird. Es dort im Gesichtsfeld festzuhalten, ist auch die Aufgabe des Objectträgers. Wie er dazu eingerichtet sei, wird, soweit es die diesem Buche gesteckten Grenzen erlauben, in den nächsten Paragraphen geschildert.

Vorher aber noch ein Wort über jene kleinen **Gefässe,** in welchen das bereits in genügender Menge gesammelte Material vor der eingehenden mikroskopischen Untersuchung zu durchmustern ist. Diese sind natürlich am besten von reinem, weissem Glas, damit das Durchmustern abwechselnd auf weissem oder schwarzem Grund, bei auffallendem oder durchfallendem Licht (z. B. über dem Durchleuchter) geschehen kann; auch seien sie so geformt, dass man dazu Lupen oder sogar das zusammengesetzte Mikroskop gebrauchen kann, mit einem Wort: sie sollen selbst als provisorische Objectträger dienen können. Besonders in dieser, aber auch in jeder anderen Hinsicht sind kleine **Glasnäpfe** von der Form der Tuschnäpfchen (auch Embryoschalen genannt: ein viereckiger Glasblock mit plattgeschliffener unterer Fläche und mit rundem, concavem Einschliff auf der oberen) den Uhrgläsern, oft auch den flachen Glasdosen, entschieden vorzuziehen[1]. In solchen Gefässen kann man die zur genaueren Untersuchung geeignetsten Exemplare am besten herauswählen, sie vom anhaftenden Schmutz reinigen u. s. w.

§ 21.

Verhüten von mechanischen Verletzungen des Objectes beim Uebertragen auf den Objectträger.

Vor den Vorsichtsmassregeln während der Untersuchung müssen die beim Uebertragen des Untersuchungsobjectes auf den Objectträger nothwendigen Cautelen besprochen werden, und zwar erstens

---

[1]) Sie stehen auf ihrer ebenen Basis vollkommen sicher und können auch zu 6 oder mehr aufeinandergestellt werden, ohne umzufallen. Sie sind auf einer glatten Unterlage so gleichmässig hin- und herschiebbar, dass die Objecte in ihnen dabei ganz unbewegt bleiben. Mit aufgeschliffener Glasplatte schliessen sie vollkommen gut, sind leicht zu reinigen und sehr haltbar, deshalb sogar billiger als Uhrgläser, welche der Mikrograph eigentlich blos zum Zudecken von Gegenständen benutzen sollte, wenn dazu eine Glasplatte nicht verwendbar ist. — Rud. Siebert (Wien, VIII/I, Alserstrasse 19) liefert solche Glasnäpfe (in seinem Special-Preiscourant vom Wintersemester 1895 über Utensilien und Reagentien für Uroskopie, Mikroskopie etc. unter Embryoschalen) mit gut passendem rundem oder viereckigem Glasdeckel für 16 Kreuzer das Stück. Gut gearbeitete Uhrgläser, am Boden flach geschliffen, kosten bei ihm etwa die Hälfte.

die Instrumente. welche dazu dienen, selbst, zweitens der Zustand, in dem sie zur Anwendung kommen, drittens gewisse besondere Kunstgriffe. Auch hier müssen einerseits mechanische Insulte, andererseits das Austrocknen des Objectes vermieden, aber auch das genaue Abmessen der Quantität des zu Uebertragenden (z. B. der Flüssigkeit, wo sich das Object befindet) ermöglicht werden. Leider ist die Verwendbarkeit solcher Behälter, wo sich die Objecte unter ihren natürlichen Existenzbedingungen befinden, als Objectträger heute noch sehr beschränkt.

Von den bereits erwähnten Instrumenten zum Uebertragen sind hier die wichtigsten: die Pipette, die Drahtschlinge und der Federpinsel. Haarpinsel, Spatel und Pincette sind blos für grössere oder minder verletzbare Objecte zu empfehlen. An Stelle der Pipette kann gelegentlich eine Spritze treten (ganz von Glas oder die PRAVAZ'sche Spritze).

Die **Pipette** besitze eine Saugvorrichtung (Kautschukkappe oder Stückchen von Gummiröhre, am Oberende luftdicht verschlossen), welche gut functionirt. (Von der aufgesogenen Flüssigkeit darf beim vertikalen Halten der Pipette gar nichts an ihrer Oeffnung heraustreten.) Kaliber und Oeffnung richte sich nach dem Objecte oder nach der Menge der zu übertragenden Flüssigkeit: eine Pipette von grossem Kaliber und weiter Oeffnung ist nicht gleichzeitig auch zum Uebertragen von kleinen Objecten, ausgenommen von einer grösseren Anzahl auf einmal, geeignet.

Das verjüngte Ende sei bei einer weiteren Oeffnung länger, bei einer engeren kürzer, cylindrisch ausgezogen (auf eine Oeffnung von 1 mm Durchmesser bis 1 cm, auf 2 mm bis 2 cm lang). Das Glas darf an der Mündung nicht scharf sein, und diese muss einen auf die Pipettenachse genau verticalen Kreis bilden. (Ein schräg abgestutztes oder schartiges Ende macht die Pipette für feinere Arbeiten unbrauchbar.) Man halte sich immer eine grössere Anzahl von verschiedenen Pipetten, die man sich leicht selbst verfertigen kann, vorräthig (etwa von 1/2 mm weiter Mündung an).

Wenn man irgend einen Gegenstand mit der Pipette auf den Objectträger übertragen will, achte man durch gut abgemessenen Druck an der Saugvorrichtung besonders darauf, dass man nie mehr Flüssigkeit mit aufsauge, als gerade nothwendig und zu diesem Zwecke nie mehr Luft hinauspresse (was immer vor dem Eintauchen in die Flüssigkeit geschehen muss), als dem Volumen des Aufzusaugenden gerade entspricht. Nur so kann man es vermeiden, dass das Object zu hoch in der Pipette, aus dem cylindrischen Endabschnitt hinaus, emporsteige und dort an der Wand eventuell haften bleibe, oder aber nach dem Objecte auch Luft mit hineindringe, wenn man mit dem Druck an der Saugvorrichtung aufhört; nur so kann man das Object in einem beliebig grossen Tropfen auf die gewünschte Stelle des Object-

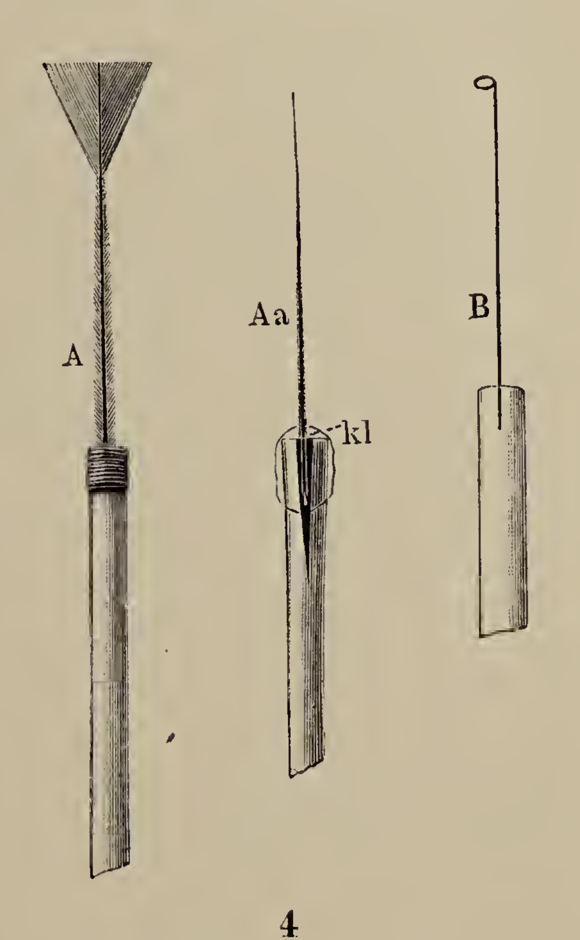
trägers bringen. Musste man mehr Flüssigkeit mit aufsaugen, als man auf den Objectträger bringen will, so wartet man, indem man die Pipette in genau senkrechter Lage mit der Oeffnung ganz nahe (beinahe bis zur Berührung) zur Stelle, wo das Object hin soll, hält, so lange, bis es zur Mündung hinuntergesunken ist; dann lässt man das Object durch minimalen Druck an der Saugvorrichtung heraustreten mit nur so viel Flüssigkeit, als eben nothwendig. Beim langsamen Entfernen der Pipette vom Objecte muss der Druck so lange unverändert anhalten, bis der Zusammenhang des herausgetretenen Tropfens und der Mündung der Pipette unterbrochen ist.

Abgesehen davon, dass die Pipette ganz rein, auch von jeder Spur von Fett innen und aussen frei sein muss, soll man sie zum Uebertragen des Objectes immer in der Weise vorbereiten, dass das Object auch während seines Verweilens in ihr seine Lebensbedingungen so weit als möglich erfüllt finde. Es darf weder die Temperatur des natürlichen Mediums, wo das Object lebt, noch die Zusammensetzung desselben durch die Pipette verändert werden. Eine Pipette, welche die Temperatur des Laboratoriums besitzt, würde z. B. den Bluttropfen, den man einem Säugethier entnimmt und auf den erwärmten Objectträger überträgt, zu sehr abkühlen, auch könnte dem Tropfen durch die trockene Pipette zu viel Wasser entzogen werden. Würde man sie aber andrerseits vorher mit destillirtem Wasser von der nothwendigen Wärme ausspülen und dadurch erwärmen und befeuchten, so würde das destillirte Wasser den Tropfen Blut in abnormer Weise diluiren. Am besten spült man also die möglichst klein zu wählende Pipette, die man bereits erwärmt hat, mit dem ebenfalls warm gehaltenen frischen Kammerwasser (Humor aqueus) oder Fruchtwasser desselben Thieres aus.

Wo es sich darum handelt, ein kleines, vielleicht unter der Lupe ausgesuchtes Object, welches nicht übermässig zart ist, mit möglichst wenig Flüssigkeit auf den Objectträger, der mit der nothwendigen Menge des erwünschten Mediums schon versehen ist, zu übertragen, vielleicht in den hangenden Tropfen zu bringen, ist, wie erwähnt, entweder der Federpinsel oder die Drahtschlinge zu empfehlen.

Der **Federpinsel**, ein Lieblingsinstrument von Ehrenberg, heute in ganz unverdienter Weise vernachlässigt, ist namentlich bei länglichen oder abgeplatteten Objecten geboten. Wenn man aber mit zwei einander entgegen wirkenden Federpinseln arbeitet, so können auch kugelige Körper ebenso gut transportirt werden. Man verfertigt sie in verschiedener Grösse am besten selbst von Gans-, Raben- oder (besonders die kleineren) von Eulenfedern mit geradem Schaft. Am geeignetsten sind die möglichst symmetrisch gebauten mittleren Contourfedern des

Schwanzes (Steuerfedern), dann die Schwungfedern dritter und die Deckfedern (s. s.) erster Ordnung. Ich benutze blos das Ende, einen 3-5 cm langen Theil der Feder. Die Aeste werden etwa 1 mm weit vom Schaft rechts und links in gerader Linie mit einem scharfen Scalpell (drückend, ja nicht ziehend) über einer ebenen Unterlage aus weichem Holz (Lindenholz) durchgeschnitten und blos eine Anzahl an der Spitze je nach der erwünschten Grösse stehen gelassen. Endlich wird auch die äusserste Spitze der Feder in gerader Linie quer durchgeschnitten. Die Federn müssen immer so gewählt und zugeschnitten werden, dass der Schaft keine merkliche Verdickung am Vorderrande des Pinsels bilde. Beim Durchschneiden der Aeste achte man darauf, dass dabei ihr Zusammenhang, welchen das Ineinandergreifen der Widerhaken ihrer Strahlen bedingt, nicht unterbrochen werde, und sie überhaupt nicht in Unordnung gerathen. Den Federpinsel stecke ich in das gespaltene Ende eines weichen Holzstäbchens und binde ihn dort mit einem Seidenfaden fest (Figur 4 A). Meist sitzt er auch ohne Anbinden fest genug. Auch kann man etwas Klebwachs in den Spalt neben den Schaft des Pinsels beiderseits hineindrücken (Figur 4 Aa). Sie dauern so wie so nicht lange; ein neuer ist aber in einer Minute fertig. Uebrigens kann man sie leicht etwas dauerhafter machen dadurch, dass man sie im Wärmekasten erwärmt und dann in geschmolzenes Paraffin taucht. Allerdings büssen sie dabei etwas von ihrer Zartheit und Elasticität ein. Dieses Instrument ist eines der nützlichsten, zweckmässigsten und billigsten und kann in der Mikrographie, wie wir sehen werden, die vielfachste Verwendung finden.



4

A Federpinsel von der Fläche, *Aa* von der Seite, in das gespaltene Ende eines Holzstäbchens hineingezwängt und mit etwas Klebwachs *kl* befestigt. *B* Drahtschlinge in das Ende eines Glasstäbchens gesteckt.

Der Federpinsel wird unter das zu übertragende Object geschoben, welches wegen der Weichheit, Elasticität und Dünne der unterschobenen Fläche nicht verletzt werden kann. Oder aber man schwemmt es mit einem in geeigneter Weise zugestutzten, kleinen, weichen Haarpinsel[1] auf die hori-

[1]) Den Pinsel schneide ich für solche Zwecke in der folgenden Weise zu. Blos einige wenige Haare in der Achse des Bündels (etwa ein Dutzend)

zontal hingehaltene Fläche des Federpinsels, ohne es indessen direct zu berühren. Auch während des sehr langsamen Heraushebens aus der Flüssigkeit wird der Haarpinsel in die Nähe des Objectes gehalten, damit es nicht eventuell zurückgleite. Am besten ist es aber, mit zwei Federpinseln zu manipuliren, die einander entgegenwirken. Am Federpinsel haftet nichts von einer wässrigen Flüssigkeit, und diese umgiebt auch das Object blos mit einem dünnen Mantel. Den Ueberschuss von anderen Flüssigkeiten entfernt man einfach dadurch, dass man die untere Fläche des Federpinsels über Löschpapier in horizontaler Lage hinwegstreift. Wenn man nun die Oberfläche der Flüssigkeit auf dem Objectträger mit dem nach unten gehaltenen Objecte nur berührt, so verlässt dieses den Federpinsel sofort.

Die **Drahtschlingen** mache man sich ebenfalls selbst in verschiedener Grösse von verschieden starkem Neusilberdraht oder von Platindraht, falls die Schlinge auch mit Medien in Berührung kommen soll, die Neusilber angreifen würden. Sonst ist Neusilber wegen seiner grösseren Elasticität besser; man kann davon viel dünneren Draht benutzen und daher auch kleinere Schlingen, die brauchbar sind, verfertigen. Die Schlinge für kleinere Objecte muss nämlich nicht nur eine kleinere Oeffnung haben, sondern auch von möglichst dünnem Draht sein, damit dieser keinen im Verhältniss zur Grösse des Objectes zu hohen und daher schwer passirbaren Wall bildet. — Das Ende des Drahtes wird zu einem Kreise gebogen und der Kreis vertical umgebogen. Die Neusilberschlingen werden in das Ende eines Holzstäbchens, die Platinschlingen in Glasstäbchen über einer Gasflamme, wo das Glas erweicht und der Draht glühend gemacht wird, hineingesteckt. (Figur 4 B).

Die Drahtschlingen werden in derselben Weise wie die Federpinsel benutzt, nur sind sie mehr zum Uebertragen von rundlichen Objecten geeignet. Letztere können bedeutend kleiner sein als die Oeffnung der Schlinge, die Adhäsion der Flüssigkeit hält sie beim Uebertragen doch fest in der Schlinge, so dass sie mit dem Draht gar nicht in Berührung zu kommen brauchen. Taucht man dagegen die Schlinge in die Flüssigkeit auf dem Objectträger, so fällt das Object gleich aus ihr heraus. Selbstverständlich eignen sich die Drahtschlingen auch zum Uebertragen von kleinen Quantitäten flüssiger oder halbflüssiger Substanzen ganz besonders gut, zu diesem Zwecke werden sie ja auch in der Bacteriologie verwendet.

Dem lebenden Thier werden die hier in Betracht kommenden Elemente am besten in der Weise entnommen, dass man das zum

---

werden ganz gelassen, die übrigen so abgestutzt, dass die äussersten die kürzesten, dass aber auch die längsten, welche die ganz gelassenen Haare unmittelbar umgeben, um 2-3 mm kürzer als diese sind. In den wenigen ganz gelassenen Haaren können sich auch kleine Objecte nicht mehr verwickeln, und erstere bilden, unterstützt von den abgestutzten, doch ein Bündel von genügender Strammheit und Elasticität.

Uebertragen bestimmte Instrument (meist wohl Pipette, Spritze oder Drahtschlinge) direct in das Organ hineinführt, wo sie sich naturgemäss befinden, also z. B. in ein Blutgefäss, in einen Lymphraum, in den Samenleiter, in die Körperhöhle gewisser niederer Thiere, welche Geschlechtsproducte und andere Elemente enthält, und dergl.

Wir können die verschiedenen Kunstgriffe, die dafür auf den verschiedenen Gebieten der Morphologie in Gebrauch sind, nicht alle schildern, sondern wollen blos zwei erwähnen, die, mutatis mutandis, auch für andere Gegenstände anwendbar sind.

Um Leukocyten in grösserer Anzahl, als sie sich in der, zum Beispiel dem dorsalen Lymphsack des Frosches entnommenen, Lymphe gewöhnlich befinden, in das Gesichtsfeld zu bekommen, legt man entweder kleine **Glaskammern nach Ziegler** ([1] bei J. Arnold [2], p. 211-212) oder Hollundermark-Plättchen nach Arnold [2] in die Rückenlymphsäcke von Fröschen ein und näht die Wunde zu.

Die Glaskammern wende man an, wenn es sich blos um die Demonstration von lebenden Lymphzellen handelt, und die Untersuchung sich nicht über mehrere Stunden ausdehnt. Für diesen Zweck genügt es, die Glaskammer 6 bis 12 Stunden lang in dem Lymphsack zu belassen; während dieser Zeit wandert eine genügende Anzahl von Leukocyten in den capillaren Raum zwischen den beiden Plättchen der Glaskammer ein. Für eine längere Zeit sind die Ernährungsverhältnisse der Zellen im Inneren des capillaren Raumes zu ungünstig, weshalb sie bald anfangen abzusterben. Die Ziegler'sche Glaskammer wird nämlich in der Weise hergestellt, dass man zwei kleine viereckige Stückchen von einem dünnen Deckgläschen an den vier Ecken mit einander (z. B. mit Canadabalsam) verkittet. — Zur Untersuchung legt man die Glaskammer entweder zwischen Objectträger und Deckglas in frisch abgelassenen Humor aqueus ein, oder man benutzt die eine Wand der Kammer selbst als Deckglas, nachdem man sie mit Filtrirpapier vorsichtig abgewischt hat. Durch einen feinen Pinselstrich verschliesse ich die Ränder der auf dem Objectträger liegenden Kammer mit Ricinusöl, wodurch einerseits das Verdunsten der Lymphe verhindert, andrerseits eine genügende Befestigung der Kammer auf dem Objectträger erreicht wird.

Ist für die Untersuchung ein längeres Verweilen im Lymphsack nothwendig, und sollen die Lymphzellen unter dem Mikroskop längere Zeit hindurch, etwa Tage lang, verfolgt werden, so ist die **Methode von Arnold** bei weitem besser. Die Hollunderplättchen, die man nach Arnold in die Rückenlymphsäcke einlegt, sind 0·05-0·25 mm dick; man durchtränkt sie vorher, damit die Luft aus ihnen verdrängt wird, mit frisch abgelassenem Humor aqueus. Man lässt sie nach Belieben Tage, Wochen oder Monate lang im Lymphsack, kann eventuell auch ihre vollständige Einheilung abwarten, vorausgesetzt, dass das ganze Verfahren absolut aseptisch gewesen ist. Hat man darauf nicht geachtet, so entwickeln sich im Hollundermark bald massenhaft Bacterien, und das Plättchen wird unter Eiterbildung stückchenweise ausgestossen. Natürlich ist eine vollkommene Asepsie auch für die ungestörte längere Untersuchung selbst die wichtigste Bedingung. (Alle benutzten In-

strumente und Apparate müssen vorher hohen Temperaturen lange genug ausgesetzt gewesen sein.) — In den oberflächlichen Zellreihen der Platte hat sich bereits nach 6 Stunden meist eine für die Untersuchung genügende Anzahl von Leukocyten angesammelt; nach 24 Stunden sind sie auch in die tieferen Zellen vorgedrungen, befinden sich aber in den oberflächlicheren schon zu gedrängt beisammen, um sich einzeln ungestört beobachten zu lassen. Dann muss man warten, bis ein Theil von ihnen unter dem Mikroskop wieder ausgewandert ist[1]. Auch die dünnen Coagulationsmembranen, welche sich an der Oberfläche der Hollunderplättchen schon nach 24 Stunden bilden und, leicht abgezogen, dann, auf dem Deckglas ausgebreitet, in einer feuchten Kammer untersucht werden können, sind ein sehr geeignetes Object, denn ihre Lücken enthalten zahlreiche Leukocyten.

Auch die Vorbehandlung der Thiere, welche selbst zwar kein Object mikroskopischer Untersuchung sind, von denen aber gewisse Theile, ohne ganz losgetrennt zu werden, dem Mikroskop während des Lebens zugänglich sind, zu besprechen, würde zur Schilderung von ganz speciellen Methoden führen, auf welche sich dieses Buch nicht ausdehnen kann. Deshalb wollen wir auch hier blos eine Methode erwähnen, welche, wenigstens für die Wirbelthiere, einen allgemeinen Werth hat: ich meine das **Curarisiren** des Versuchsthieres. Unsere erste Aufgabe ist hier nämlich, die Bewegungen desselben zu hindern[2], und im Curare besitzen wir ein werthvolles Mittel, welches in geeigneter Dosis blos die motorischen Endorgane der Nerven der willkürlichen Muskulatur lähmt, dagegen die sensorischen Bahnen, die Muskulatur des Herzens, anfangs auch die respiratorischen Muskelgruppen und die glatten Muskeln in beinahe ungestörter Functionsfähigkeit belässt. Die Dosis der am besten in die Blut- oder Lymphbahn zu injicirenden Lösung ist für verschiedene Thiere und auch bei verschiedenen Curaresorten sehr verschieden und kann jedesmal blos durch Probiren festgestellt werden. (Gewöhnlich injicirt man einem mittelgrossen Frosch 0·1-0·2 g einer 1procentigen wässerigen Lösung in den Rücken-Lymphsack; nach Ranvier ([2b] p. 47, 459, 461 etc.) genügt es, zwei Tropfen einer 1promilligen guten Curarelösung subcutan zu injiciren.)

---

[1]) Die Hollundermarkplättchen mit den Leukocyten kann man auch jeder beliebigen Fixirung, Einbettung und Tinction unterwerfen, so dass hier die Beobachtung der lebenden Zelle direct mit der der fixirten und tingirten verglichen werden kann.

[2]) Andere Mittel dazu sind, ausser dem mechanischen Fesseln des Thieres, die Narcose durch Chloroform, Aether etc., bei manchen Kaltblütern die Entfernung des Gehirns, beim Frosch das Einlegen in 37-38grädiges Wasser u. s. w.

§ 22.

Verhüten von mechanischen Verletzungen des Objectes unter dem Mikroskop. Die Objectträger-Zellen.

Beim Erhalten der in diesem Paragraphen zu besprechenden Lebensbedingungen unter dem Mikroskop spielt die zweckmässige Einrichtung des Objectträgers die grösste Rolle. Zunächst sollen die Wände des Objectträgers keinen Druck auf das Object ausüben, welcher es mechanisch schädigen könnte; der Objectträger soll also eine **Zelle** von den nothwendigen Dimensionen darstellen.

In der einfachsten und für sehr viele Objecte, namentlich bei kürzerer Untersuchungsdauer, vollkommen entsprechender Weise wird die **Zelle blos durch den Objectträger** im engeren Sinne **und das Deckglas hergestellt.** Die Seitenwände werden durch die einheitliche und gleichmässige Grenzfläche des Mediums zwischen Deckglas und Objectträger gebildet. Die nothwendige Höhe der Zelle sichert man bis zu einer gewissen Grenze dadurch, dass man den Flüssigkeitstropfen gross genug nimmt.

Zu einer einheitlichen, von eingeschlossenen Luftblasen nicht unterbrochenen Schichte breitet sich das Medium dann aus, wenn Deckglas und Objectträger vollkommen rein sind, der Tropfen eine einheitliche, deutlich convexe Oberfläche besitzt und man das Deckglas, indem man es ganz horizontal hält, so auflegt (nicht fallen lässt), dass zuerst die Mitte den Höhepunkt des Tropfens berührt. Seitlich unter dem Deckglas hervortreten wird die Flüssigkeit dann nicht, wenn der Tropfen nicht zu gross, und das Deckgläschen nicht zu schwer ist. (Je dünnflüssiger das Medium, ein um so dünneres und leichteres Deckglas erfordert es[1].)

Man braucht blos die Verdunstung des Mediums an den unbedeckten Grenzflächen zu verhindern, um die Dimensionen der so gewonnenen Zelle unverändert zu erhalten und einen nachträglich eintretenden Druck auf das Object vollkommen zu vermeiden.

Am bequemsten ist die Untersuchung natürlich in solchen Zellen. Auch die mögliche Dauer der Untersuchung in ihnen hängt blos davon ab, inwiefern die übrigen Lebensbedingungen des Objectes erfüllt werden können. Leicht ist die Erhaltung der erforderlichen Temperatur, und vielfach auch die Versorgung mit Oxygen und das Entfernen der

---

[1]) Diese Vorsichtsmaassregeln des Einschlusses, welche zu den allerelementarsten der Mikrotechnik gehören, gelten natürlich für jedes Medium und jedes Object, das einfach zwischen Objectträger und Deckelglas eingelegt werden kann.

Kohlensäure aus dem Medium möglich. Auch in Betreff der anwendbaren Vergrösserung und der Beleuchtung sind die Verhältnisse am günstigsten; die erstere ist blos durch die Dimensionen des Objectes begrenzt, da die nothwendige Schichte des Mediums blos um ein weniges dicker als das Object selbst sein muss.

Erscheint es zweckmässiger, weil das Object z. B. bei grosser Zartheit etwas dicker ist, **das Deckglas** auch anderswie **zu stützen**, so kann das entweder nachträglich durch vorsichtig unterschobene oder durch vorher hingelegte Gegenstände geschehen. Letzteres ist dann zu empfehlen, wenn jede Möglichkeit des geringsten Druckes auf das Object ausgeschlossen werden soll. Schwer ist es aber dann, die Flüssigkeitsmenge so zu treffen, dass sie die entstehende Zelle von grösserer Höhe vollkommen fülle und Luftblasen keinen Raum lasse, andrerseits auch an den Rändern des Deckglases nicht hervortrete. In beiden Fällen kann das Object sehr leicht in eine der Beobachtung ungünstige Lage kommen, was ein Entfernen und wiederholtes Auflegen des Deckglases nothwendig macht. Als nachträglich unterzuschiebender stützender Gegenstand dient am besten ein dreieckiges ganz flaches, besonders an den Rändern nicht umgebogenes oder unregelmässiges Stückchen Cartonpapier (oder festes Schreibpapier) von etwa 2 mm Seite und entsprechender Dicke, welches, auf dem Objectträger liegend, mit der Spitze voraus vorgeschoben wird, bis die Basis des Dreiecks in eine Linie mit dem Deckglasrande kommt. Dabei muss man der Verschiebung des Deckglases durch eine vorgehaltene Nadel[1] entgegenwirken. Blos einseitig sollte man das Deckglas, ausgenommen für specielle Zwecke, nie stützen, sondern immer so, dass es sich, überall in gleicher Höhe über dem Objectträger, in ganz sicherem Gleichgewicht befinde, also am besten an vier Punkten, in der Mitte jeder Seite (nicht an den Ecken), wenn das Deckglas viereckig ist. In derselben Weise kann man anstatt Papier ähnlich geformte Stückchen von Deckglas benutzen. Papier ist aber besser, weil ein damit unterstütztes Deckglas sich weniger leicht verschieben lässt.

Ausserdem benutzt man noch Stückchen von Kopfhaar oder Borste, Seidenfaden oder Zwirnfaden, Tröpfchen von Paraffin

---

[1]) Ein Spatel oder irgend ein flacher Gegenstand, welcher sonst geeigneter wäre, als eine Nadel, die das Deckglas blos an einem Punkt zurückhält, ist hier deshalb nicht zu empfehlen, weil an jenen an der Berührungslinie eventuell zu viel Flüssigkeit haften und, nachdem man sie weggenommen hat, am Deckglasrande hervortreten könnte.

oder Wachs. Kügelchen von Klebwachs[1]. Fragmente von Pflanzen, mit welchen das Untersuchungsobject zusammen lebt (Fadenalgen für Infusorien, Rotatorien und dergl.), Glaswolle oder Baumwolle (s. die allseitig geschlossenen Zellen weiter unten). Alle sind blos im Voraus zweckmässig anzubringen. Die Tropfen und Kügelchen sollen gleich gross sein. Sind sie ungleich gross oder zu gross ausgefallen, so drückt man auf die zu grossen das Deckglas mit einer erhitzten Nadel etwas auf, damit sie sich mehr abflachen.

Oft genügt indessen die aus Objectträger und Deckglas (mit oder ohne Stütze) verfertigte Zelle ohne besondere Seitenwände nicht, sondern man muss sich eine **allseitig geschlossene Zelle** bauen. Am einfachsten bildet dann wieder der Objectträger die untere, das Deckglas die obere Wand. Die Seitenwände macht man: a) aus Streifen von Papier oder Glas (eventuell einem Ring von Papier, Glas oder Guttapercha), b) aus Glas- oder Baumwolle, eventuell Seidenfaden und dergl., c) aus einer flüssig aufgetragenen, aber bald, noch vor dem Auflegen des Deckglases, erstarrenden Masse, d) aus einer flüssig oder wenigstens weich bleibenden Masse, welche sich aber mit dem Medium, worin sich das Object befindet, nicht mischt und in dieses auch nicht theilweise übertritt.

Eine allgemeine Regel ist auch hier, dass die Seitenwände gleich hoch seien oder wenigstens beim Auflegen des Deckglases die gleiche

---

1) Zum Bereiten des Klebwachses wurden mehrere Recepte empfohlen. Ich mache es gewöhnlich in der Weise, dass ich 4 Theile gelbes Wachs (das weisse ist zu oft gefälscht), 2 Theile venetianischen Terpentin (wie er im Handel vorkommt, ohne Alkoholzuthat, wie beim Bereiten des Fickert-Vosseler'schen venetianischen Terpentins für Einschluss [Vosseler [1] p. 294]) und 1 Theil gelbes Vaselin in einer Porzellanschale über offener Flamme (allein bei nicht zu hoher Temperatur, denn sonst verdampft zu viel von den Oelen des Terpentins, die übrigens auch leicht entzündbar sind, und die Masse wird zu spröd und zu wenig klebrig) bei stetem Umrühren erwärme. Die heisse Masse wird in einem Paraffinofen filtrirt. Man bewahrt die Masse in einer Glasdose mit Deckel auf und entnimmt das nothwendige Quantum jedesmal mit Spatel oder Scalpell. Dieses wird zwischen den Fingern walzenförmig zusammengeknetet, in vier gleich grosse Stücke geschnitten und von diesen die Kügelchen geformt, welche in dieser Weise ziemlich gleich gross ausfallen. — Vosseler [2] bereitet Klebwachs so, dass er ein beliebiges Quantum von weissem Wachs in einem Porzellangefäss schmilzt und dazu unter beständigem Umrühren die Hälfte bis zwei Drittel venetianischen Terpentins giesst. Der Härtegrad der Masse kann durch mehr Terpentin beliebig vermindert und durch mehr Wachs gesteigert werden. Von der richtigen Zusammensetzung überzeugt man sich schon während des Bereitens an etlichen Tropfen, die man auf eine Glasplatte oder in Wasser fallen lässt. (p. 462).

Höhe bekommen. Bei a) und c) braucht die Zelle von der Flüssigkeit nicht ganz erfüllt sein, bei b) und d) muss sie es dagegen. Bei a) und c) kann die Flüssigkeit sogar so gering abgemessen sein, dass sie blos auf dem Deckglas hängt und den Objectträger gar nicht berührt. (Untersuchung im hangenden Tropfen.) Sowohl in diesem Fall, als auch, wenn der Tropfen zwar auf den Objectträger kommt, aber durch das aufgelegte Deckglas blos abgeplattet, nicht ganz ausgebreitet wird, muss die Flüssigkeit eine regelmässige runde Stelle in der Mitte der Zelle einnehmen und im letzteren Fall mindestens so viel sein, dass sie Objectträger und Deckglas mit gleich grosser Fläche berührt. Der Vortheil einer solchen theilweisen Füllung der Zelle ist, dass sich die Beobachtung auf den von den Dimensionen des Gegenstandes erlaubten geringsten Raum beschränken kann, einzelne Elemente näher beisammen bleiben und ein sich hin und her bewegendes Object leichter wieder in das Gesichtsfeld zu bringen ist. Sobald aber die Verdunstung innerhalb der Zelle die Concentration des Mediums in einer schädlichen Weise ändern, oder das sich zu energisch bewegende Object aus der Flüssigkeit heraus könnte, muss die ganze Zelle gefüllt werden.

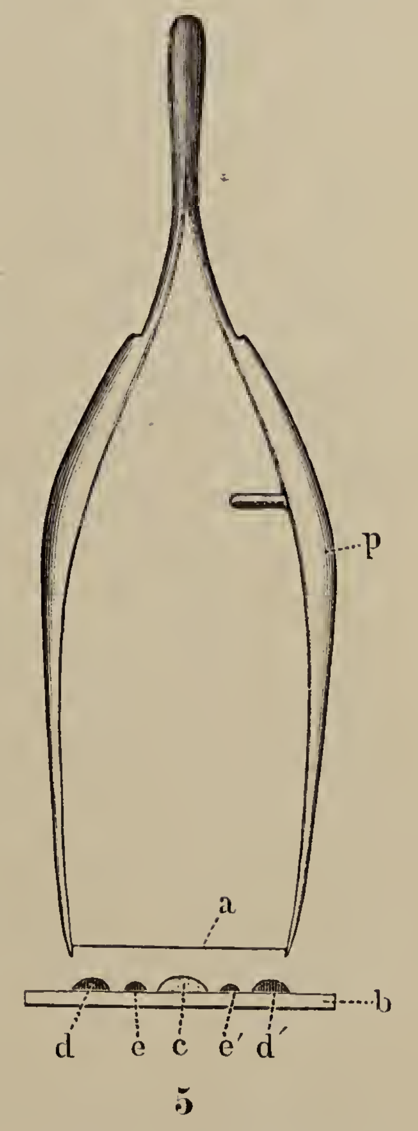
Ad a). Die ganz regelmässig zugeschnittenen Glas- oder Papierstreifen, deren nöthige Länge und Breite man genau berechnet hat, können in der oben erwähnten Weise auch nachträglich unter das Deckglas geschoben werden. Die Ringe würde ich weniger empfehlen, ausgenommen die von vornherein aufgeklebten Glasringe (s. weiter unten).

Ad b). Man bringt den möglichst kleinen Tropfen auf den Objectträger und umgiebt ihn ringförmig mit gleichmässig ausgebreiteter feiner Baumwolle in einer je nach der Dicke des Objectes dickeren oder dünneren Lage, ohne damit den Tropfen zu berühren. Bei richtigem Auflegen des Deckglases bildet sich innerhalb des Ringes eine grössere Zelle und zwischen den Fäden der Wolle eine Anzahl kleiner Zellen. Kleine Objecte mit rascher Bewegung kann man in den letzteren, wo sie zum Theil hineingerathen und isolirt werden, natürlich besonders leicht verfolgen, in das Gesichtsfeld immer wieder zurückführen. Dieses Verfahren, empfohlen von T. Bolton [1], eignet sich besonders für Protozoen, Rotatorien, kleine Crustaceen und dergl. Auch kann man ein Stückchen Müllergaze mit den weitesten Maschen oder anderes Zeug auf den Objectträger legen, einen Tropfen der Flüssigkeit darauf und so bedecken. Den zwischen den Rändern des viereckigen Gaze-Stückchens und dem Deckglasrand frei zu haltenden Raum füllt man vom Deckglasrande her mit Ricinusöl. Die so den Maschenräumen der Gaze entsprechenden kleinen viereckigen Zellen kann man sich in Gedanken numeriren, um dieselbe Stelle des Präparates leicht wieder zu finden.

Ad c). Den viereckigen (wir ziehen diesen stets vor, da wir auch blos viereckige Deckgläser benutzen) oder runden (dann auf dem Drehtisch [s. Behrens, Kossel, Schiefferdecker p. 226, Stirling [1] p. 88, Frey [4] p. 156] oder mit dem Drehpinsel von Cornu [Ranvier [2b] p. 125] ge-

machten) Rahmen, welcher die Seitenwände der Zelle bilden soll, kann man aus sehr verschiedenen Massen verfertigen. Die gebräuchlichsten sind: irgend ein Lack (wie sie zum Umranden beim feuchten Einschluss benutzt werden, s. im XIV. Abschn.), von welchen ich einen feinen Siegellack in dicker Alkohollösung (Alk. absolutus) allen anderen vorziehe; Canadabalsam (am besten eine dicke Chloroformlösung); geschmolzenes Paraffin oder Wachs (Klebwachs). Die ersteren werden mit einem Pinsel, die zwei letzteren mit einem erhitzten Spatel, einer warmen Pipette oder dergleichen aufgetragen und mit einer glühenden Nadel (Platinnadel) gleichmässig dick und breit gemacht. (Mit einem Wachskerzchen, was auch vielfach empfohlen wurde, ist es viel schwerer, einen regelmässigen Rahmen zu machen).

Ad d). Einen flüssigen **Rahmen**, wie ihn bereits STRICKER [2] p. VI. 1869 vorschlug, mache ich meist **von Ricinusöl**. (Figur 5). Er eignet sich besonders für kleine Objecte, die nicht zu dick sind, um die stärksten Vergrösserungen zuzulassen. Ich mache mit einem feinen und guten Pinsel zwei dünne Rahmen, den äusseren so gross, wie das Deckglas. (Eine gleichmässige Dicke bekommt der Rahmen von selbst, wenn man den Objectträger eine Minute horizontal liegen lässt.) Die Dicke und Höhe der Rahmen muss in der Weise bemessen sein, dass der Flüssigkeitstropfen, welcher in die Mitte des Raumes innerhalb des inneren Rahmens zu liegen kommt, nach dem Auflegen des Deckglases jenen, das Ricinusöl aber den übrigen Raum ausfülle, ohne an den Rändern hervorzutreten. Der Tropfen mit dem Untersuchungsobject sei lieber etwas zu klein, als zu gross; denn wenn er weniger vom inneren Raum in Anspruch nimmt, so wird der übrig bleibende vom Ricinusöl eingenommen, und Oel und Untersuchungsmedium grenzen sich doch in einer graden, ununterbrochenen Fläche ab. Wenn aber der Tropfen im inneren Raum keinen Platz findet, so tritt er beim Auflegen des Deckglases über den Oelrahmen hinaus, was mehrere Nachtheile für das Object und für die Untersuchung zur Folge haben kann.



5

Anlegen eines doppelten Ricinusölrahmens für die Oelzelle. Haltung der Pincette *p* beim Auflegen des Deckglases *a*. — *dd'* äusserer, *ee'* innerer Oelrahmen, *c* der Tropfen mit dem Untersuchungsobject, *b* der Objectträger.

Mit dieser Methode habe ich verschiedene Gegenstände (Blut, Lymphe, Samenfäden, Protozoen etc.) zum Theil Tage, ja eine Woche lang sehr bequem lebend untersuchen können. Die Höhe der so verfertigten Zellen kann nach Belieben so gering sein, dass rothe Blutkörperchen von Säugethieren eben noch auf ihrer Kante stehen, andrerseits aber auch so gross, dass *Opalina* und ähnliche Riesen der Protozoenwelt bequem umher schwimmen, sich sogar senkrecht aufstellen können.

Man achte indessen darauf, dass bei Objecten, denen das Entziehen einer geringen Menge von Wasser (z. B. dem Blut) bereits schädlich ist, weder der Raum für den Tropfen, noch dieser selbst allzu klein sei, denn das Ricinusöl entzieht eine in diesen Fällen schon bemerkbare Wassermenge, was besonders an den der Grenzfläche nahe liegenden Elementen auffallend ist. Deshalb müssen sich wenigstens die mittleren Zonen des Präparats in einer solchen Entfernung vom Oel befinden, dass dessen wasserentziehende Wirkung nicht mehr ins Gewicht fällt. Eine Trübung der Grenzzone, wie bei manchen anderen Oelen, kommt bei Ricinusöl nicht vor, oder erst nach längerer Zeit. Strenge Asepsis ist natürlich auch hier Bedingung einer ungestört andauernden Untersuchung von Elementen, die höheren Organismen entnommen sind[1].

Einen nicht flüssigen, aber wenigstens anfangs und beim Auflegen des Deckglases weichen Rahmen (einen ringförmigen Wall) kann

---

[1]) Ganz besonders geeignet ist diese Methode zum Demonstriren von frischem Blut, Lymphe und überhaupt von Substanzen, die in sehr dünner Lage ausgebreitet, indessen weder mechanisch insultirt, noch der Gefahr eines Eintrocknens ausgesetzt werden sollen. Bevor man den möglichst kleinen Tropfen Blut (die Oelrahmen sind natürlich entsprechend niedrig gemacht), den man mit einer tadellosen Pipette nach den obigen Vorsichtsmassregeln entnommen hat, in die Mitte des inneren Vierecks (Figur 5) auf den Objectträger bringt, muss man diesen anhauchen, ebenso auch das Deckglas, welches sofort aufzulegen ist. (Eine einfache Methode, wie man ein Deckglas auf ein Object aus geringster Entfernung und ganz horizontal niedersinken lässt, ist, dass man das Deckglas auf eine horizontale Unterlage von weichem Holz legt und die Schenkel einer spitzigen, besser nicht gerieften Pincette ganz nahe (etwa $1/4$ mm weit) an den beiden Seiten des Deckglases, genau an ihrer Mitte, in das Holz hineinsticht und so das Glas zwischen den Schenkeln der Pincette, wo es eingeklemmt wird, aufhebt, die Pincette in senkrechter Lage auf den Objectträger stellt und ihre Schenkel erst jetzt auseinanderweichen lässt. (S. Figur 5). Je nachdem man mehr oder weniger tief in das Holz stach, wird die Entfernung, aus welcher das Glas auf den Objectträger fällt, verschieden gross, wenn man will ganz minimal sein). Das zu untersuchende Medium bildet in dieser Weise eine ganz gleichmässige, beliebig dünne, regelmässig viereckige (nach Belieben auch runde) Schichte, welche vor Druck und Verdunstung vollkommen geschützt ist. Die wasserentziehende Wirkung des Oelrahmens ist, wie erwähnt, längere Zeit blos in der Randzone bemerkbar, wo z. B. im Säugethierblut hie und da eine Stechapfelform der rothen Blutscheiben auftaucht. Weiter erstreckt sich diese Wirkung nur sehr langsam und ohne Formveränderungen zu verursachen, obwohl sie nach längerer Zeit das ganze Präparat betreffen kann. So fand ich in einer Schicht Säugethierblut von einem Quadratcentimeter Fläche und etwa 10 μ Dicke nach einer Woche sämmtliche Blutscheiben ohne die geringste Formveränderung

man nach STRICKER ([2] p. VI) aus Glaserkitt machen. Auch dieser ist in mancher Hinsicht sehr praktisch.

Als nicht blos ad hoc zusammengestellte, sondern besonders verfertigte **dauernde Objectträgerzellen** werden, auch abgesehen von den verschiedenen Thierbüchsen älterer Construction, sehr vielerlei Einrichtungen benutzt. Obwohl alle, in welchen Objecte in einem flüssigen Medium untersucht werden, eigentlich feuchte Kammern sind, da sie ausser dem Druck besonders auch die Verdunstung verhüten sollen, so wollen wir von ihnen die Einrichtungen, welche hauptsächlich der Untersuchung im hangenden Tropfen oder aber ohne Deckglas dienen, trennen und sie als feuchte Kammern im engeren Sinne besonders behandeln. Diese sowohl, als auch die Apparate, die eine künstliche Aenderung der Atmosphäre innerhalb der Zelle bezwecken, die sogenannten Gaskammern, werden in den nächsten Paragraphen folgen.

Die einfachsten Objectträgerzellen bestehen aus einem **Glasring**, welcher dem Objectträger (z. B. mit Canadabalsam oder Chromgelatine) aufgekittet, und dessen freier Rand mit der Ebene des Objectträgers genau parallel und glatt geschliffen ist, damit das Deckglas in eine horizontale Lage kommt, und die Zelle gut schliesst. Die Höhe des Glasringes ist natürlich nach der Dicke des Objectes zu bemessen, welche sie meist etwas übertreffen soll. Er wird am leichtesten aus

---

auf die Hälfte ihres ursprünglichen Durchmessers reducirt. Wie wenig dennoch der Einfluss des Ricinusöls auf das Medium den Organismen darin schadet, zeigen folgende, zahlreichen Versuchen entnommene Beispiele. Die Leukocyten des Froschblutes setzten lebhafte amoeboide Bewegungen Tage lang unter dem Mikroskop fort. Verschiedenste Protozoen (freilebende Amoeben, Heliozoen, Infusorien, Flagellaten, der Cloake des Frosches entnommene *Balantidium, Nyctotherus, Opalina* u. s. w.) lebten Tage lang ganz vergnügt, ohne die geringsten pathologischen Symptome zu zeigen. Sie sammelten sich, besonders die Opalina und Balantidium, mit Vorliebe in den Ecken des Rahmens; sie pressten sich an die Grenzfläche des Oels an, glitten am liebsten dort hin und her und lieferten so den Beweis, dass das Oel gar keinen abstossenden Reiz auf sie ausübt. Oft wurden 5 oder 6 grosse *Opalina* und *Balantidium* in einer kleinen Bucht des Rahmens von Oel vollkommen umschlossen, so dass sie sich eben noch bewegen konnten, und doch lebten sie, anfangs augenscheinlich ungestört, bis über 24 Stunden. Auch Leukocyten sah ich auf der Oelfläche ungestört herumkriechen, wo ich sie Stunden lang verfolgen konnte. — Wie die hier beschriebene Einrichtung als das schonendste Compressorium zu verwerthen ist, werden wir weiter unten mittheilen.

entsprechend langen Stücken einer genügend weiten und dickwandigen Glasröhre hergestellt, deren beide Enden man parallel und glatt schleift. Besser sind die **viereckigen Zellen** aus Spiegelglas mit runder Oeffnung, welche, an der unteren Fläche mit etwas Oel bestrichen, auf einem Spiegelglasobjectträger, auch ohne festgekittet zu werden, gut genug haften. Dadurch, dass sie auseinandernehmbar sind, ist auch die Reinigung solcher Zellen viel leichter.

Für viele Zwecke brauchbare Zellen stellen die **Objectträger mit eingeschliffener Vertiefung** von rundlicher oder ovaler Form dar. Auf solchen sitzt das Deckglas sicherer, als auf dem Glasring, und sie sind auch leichter, ohne Zurückbleiben einer Luftblase, mit Flüssigkeit zu füllen. Ihr weiterer Vortheil für manche Fälle, dass die Tiefe der Zelle gegen die Mitte zu wächst und an den Rändern minimal ist, wird indessen für andere Fälle zum Nachtheil, da das eingelegte Object, sobald es gewisse Dimensionen überschreitet, einem ungleichen Druck durch das Deckglas ausgesetzt ist. Deshalb hat man für die Beobachtung bestimmter Organismen der Vertiefung eine entsprechende Form gegeben und so verschiedene Arten von **Glaströgen** hergestellt. Solche sind gelegentlich erst nachträglich auf dem Objectträger aufgekittet, so dass ihre Ränder höher liegen, als die obere Fläche des Objectträgers, was oft ein Nachtheil ist. Von den ersteren wollen wir einen, den Objectträger für Amphibienlarven von Fr. E. Schulze ([2] 1866) besonders erwähnen.

Zu einer überall gleichmässig dicken Schichte breitet sich dagegen die zu untersuchende Substanz in den **Glaszellen** von Ranvier aus: eine rundliche oder viereckige Stelle in der Mitte des Objectträgers ist von einer rinnenförmigen Vertiefung umgeben; dieser Pfeiler ist horizontal etwas abgeschliffen und daher niedriger als die übrige Objectträgerfläche, so dass zwischen seiner oberen Fläche und dem Deckglas ein Zwischenraum bleibt, der je nach den Dimensionen des zu untersuchenden Objectes verschieden gross gemacht werden kann. Will man zum Beispiel Blut untersuchen, so legt man einen Tropfen, dessen Grösse zwischen verhältnissmässig weiten Grenzen variiren kann, in die Mitte des Raumes innerhalb der Rinne; beim Auflegen des Deckglases wird sich die überflüssige Blutmenge in die Rinne begeben. Mindestens so gross muss also der Bluttropfen sein, dass er nach dem Auflegen des Deckglases über den Rand des Pfeilers, bis in die Rinne reicht; so gross darf er aber nicht sein, dass er die Rinne ganz fülle. Je weniger indessen daran noch fehlt, um so weniger

kann eine Concentration der Flüssigkeit durch Verdunsten innerhalb der Zelle ins Gewicht fallen[1].

Viel grössere Zellen sind die sogenannten **Objecttischaquarien**, in welchen man verschiedene Organismen während ihrer Bewegungen beobachten und viel längere Zeit in ihren normalen Lebensverrichtungen erhalten kann. Ein solches ist der **senkrechte Trog von** Varley. Sie werden auf dem senkrecht gestellten Objecttisch angebracht, und die Untersuchung geschieht mit dem horizontal umgelegten Mikroskop. Den Trog von Varley, den Cori [2] unter dem Namen Objecttischaquarium unlängst neu erfunden hat (s. § 31), kann man sich leicht selbst verfertigen. Die (dem Objecttische aufliegende) hintere Wand ist ein gewöhnlicher, eventuell etwas grösserer Objectträger, die Vorderwand ein Deckglas, die Seitenwände und der Boden sind Glasstreifen, die man in einer beliebigen, von den Dimensionen des Objectes und von der anzuwendenden Vergrösserung abhängigen Dicke nimmt. Oben kann die Zelle offen bleiben oder mit einem Deckglasstreifen bedeckt, dieser auch provisorisch aufgekittet werden. Das Wasser kann man durch eine Zu- und Abflussvorrichtung, ähnlich wie im folgenden § beschrieben, wechseln und auch für einen gehörigen Luftzutritt sorgen. Zweckmässig modificirt wurde der Varley'sche senkrechte schmale Trog von James Smith bereits 1841 [1]. Man stellt in der Richtung der Diagonale des Troges ein dünnes Glastäfelchen hinein, welches das Lumen des Troges in zwei gleiche, keilförmige Hälften theilt, deren eines sich nach oben, das andere sich nach unten gegen die Vorder- oder Hinterwand verschmälert. Durch diese Einrichtung werden die schwereren Objecte in der nach unten verschmälerten, die leichteren in der nach oben verschmälerten Hälfte in grösster Nähe der betreffenden Wand gesammelt. Da nun diese Wand für beiderlei Ob-

---

[1]) Nach Ranvier [2b] p. 38 stellt man sich solche Zellen einfach in der Weise selbst her, dass man auf einem Objectträger einen viereckigen, gut schliessenden Rahmen aus etwa 1 cm breiten Spiegelglasstreifen zusammenklebt und innerhalb dieses Rahmens ein viereckiges Stück aus etwas weniger dickem Spiegelglas von solchen Dimensionen aufklebt, dass zwischen Rahmen und innerem Stück ein kleiner Zwischenraum, eine Rinne bleibt. — Ich ziehe vor, gleichdickes Spiegelglas zu nehmen und den Rahmen durch Aufkitten von Streifen aus Deckglas, welche ich je nach dem Object verschieden dick wähle (für Blutpräparate unter 0·1 mm), höher zu machen. Zum Aufkleben benutze ich nicht Canadabalsam oder venetianischen Terpentin, noch Seeleim (marine glue der Engländer), sondern Chromgelatine, lasse aber das damit Zusammengeklebte mehrere Tage lang an der Sonne stehen, bevor ich es mit Flüssigkeiten in Berührung bringe.

jecte durch entsprechende Stellung des Septums die vordere sein kann, so wird ihre Untersuchung sehr erleichtert[1].

Mit dazu eingerichteten Mikroskopen, z. B. dem **Aquariummikroskop** von FR. E. SCHULZE (s. SCHIEFFERDECKER [4] p. 318-320. Figur 1), verfertigt von KLÖNNE & MÜLLER (Berlin) und neuerdings auch von REICHERT (Wien), kann man den Inhalt selbst grösserer Gefässe untersuchen, die den Lebensbedingungen der betreffenden Organismen viel besser anzupassen sind.

Endlich kann man, falls nur schwächere Vergrösserungen erwünscht sind, längliche grössere Organismen (kleine Fische und dergl.) auch in **Röhren** eingeschlossen untersuchen, wie man es bereits in den ältesten Zeiten der Mikrographie gethan hat. Für Beobachtungen mit stärkeren Vergrösserungen können Flüssigkeiten in **Capillarröhren** oder in **Geissler'sche Kammern,** welche als feuchte Gaskammern, nach RECKLINGHAUSEN's Angaben 1865 verfertigt, (s. weiter unten) früher vielfache Verwendung fanden, eingeschlossen werden[2].

Eine ganz besondere Technik erfordert dagegen **die Untersuchung der Structurelemente von durchsichtigen Organen grösserer Thiere,** die im Zusammenhang mit dem lebenden Organismus belassen werden sollen, aber in ihrer natürlichen Lage dem Mikroskop nicht zugänglich sind. Sie müssen also, zum Theil durch operative Eingriffe, künstlich in eine Lage gebracht werden, die einerseits eine gehörige Beleuchtung und das Herantreten mit den stärkeren Linsen des Mikroskops, anderer-

---

1) Um Wasser in einen so engen Raum zu bringen, wie gelegentlich der VARLEY'sche Trog ist, erwähnt HARTING ([1] Bd. III, p. 347, Anmerk.) folgenden Kunstgriff. Er bringt einen ganz dünnen und schmalen Glasstreifen hinein, der aber so lang sein muss, dass er, auf dem Boden stehend, noch 2-3 cm herausragt. „Giesst man vorsichtig auf dieses herausragende Ende die Flüssigkeit, so läuft sie an dem Glasstreifen zum Boden der Höhlung herab und verdrängt die allmälig nach oben entweichende Luft. So lassen sich ohne sonderliche Mühe Räume füllen, die nur 3 oder 2 mm, ja selbst noch weniger messen“.

2) Natürlich kann man sämmtliche hier erwähnte Zellen, mit Ausnahme von denen mit flüssigen Seitenwänden (z. B. die Ricinusölzelle) auch zur Untersuchung von Organismen verwerthen, deren natürliches Medium Luft ist. Ist es eine mit Wasserdämpfen gesättigte Luft (bei subaërialer Lebensweise), so kann es genügen, die Wände der Zelle mit Wasser zu befeuchten, damit sich die Atmosphäre innerhalb der Zelle mit Wasserdämpfen saturire. Da indessen Wassertropfen, die sich an das Untersuchungsobject anhängen könnten, die Beobachtung stören würden, so ist es besser, den Raum um das Object herum mit feuchtem Löschpapier oder Baumwolle (letztere weniger gut, weil sich manche Objecte in der Wolle verkriechen könnten) zu füllen.

seits aber auch die Versorgung des Organs mit den zum Weiterleben nothwendigen Stoffen vom Organismus selbst her und auch ein Verhüten der Verdunstung ermöglicht. Natürlich müssen dazu in erster Linie die Bewegungen des Versuchsthieres selbst ausgeschlossen werden, was in der bereits erwähnten Weise geschieht. Da das geeignetste Versuchsthier in dieser Beziehung der Frosch ist, so ist die Mehrzahl von solchen Einrichtungen für den Frosch angepasst. Der gemeinsame Bestandtheil von den meisten ist ein **mit Kork belegter** grösserer **Objectträger**; im Kork befindet sich an geeigneter Stelle eine mit Glas bedeckte Oeffnung, über welcher das zu untersuchende Organ befestigt wird. z. B. die aus dem Mund hervorgezogene, umgelegte und zu einer dünnen Platte ausgedehnte Zunge mit kleinen Stecknadeln. Für stärkere Vergrösserungen wird sie mit einem leichten Deckglase bedeckt. Aehnlich wird auch das mit einer Darmschlinge durch einen Längsschnitt in der Mitte der Axillarlinie der Bauchwand hervorgezogene Mesenterium behandelt. Die Lunge, welche sich durch einen Längsschnitt in der Achselgegend meist von selbst wie ein Bruchsack hervorstülpt, wird an der dem Beobachter zugekehrten convexen Fläche, damit eine grössere Portion auf einmal einstellbar sei, nach Holmgren [1] durch eine Deckglasplatte, die auf einer Säule horizontal befestigt und mittelst Zahn und Trieb auf und nieder zu bewegen ist, abgeflacht. Eine genauere Schilderung dieser Apparate, welche von keiner allgemeinen Anwendbarkeit in der Mikrographie sind, würde uns aber zu weit in die Technik der physiologischen Experimente unter dem Mikroskop führen.

§ 23.

Erhalten der Lebensbedingungen des Objectes während der Untersuchung. Massregeln gegen die Verdunstung. Feuchte Kammer.

Die einfachste und meist genügende Massregel gegen die Verdunstung der Beobachtungsflüssigkeit ist ein **luftdichter Verschluss der Zelle**, namentlich wenn diese ganz gefüllt ist: das Deckglas muss mit einer geeigneten Masse umrandet werden.

Dieses Verschlussmittel hat, abgesehen davon, dass es an der Luft selbst nicht verdunsten darf und gut schliessen soll, drei Bedingungen zu genügen: erstens soll es sich mit der Beobachtungsflüssigkeit nicht mischen und davon auch nicht gelöst werden; zweitens soll es leicht, auch ohne Verschiebung des Präparates unter dem Mikroskop anzubringen sein; drittens soll man es leicht wieder entfernen können. Ein viertes Erforderniss, dass es dem Verschluss eine grössere Festigkeit verleihe, damit sich z. B. das Deckglas nicht leicht verschiebe, ist viel weniger wichtig, da es durch etwas

Vorsicht bei der Beobachtung, in den meisten Fällen wenigstens, überflüssig wird. So lose darf das Deckglas natürlich nicht liegen, dass es sich schon beim Bewegen des Objectträgers oder etwa während einer Untersuchung mit Oelimmersionssystemen durch die Cohäsion und Adhäsion des Oeltropfens beim Aendern der zu beobachtenden Stelle verschiebe.

Der zweiten Bedingung können nur solche Mittel genügen, die wenigstens beim Auftragen flüssig sind, je dünnflüssiger um so besser in dieser Beziehung, mögen sie auch später eindicken oder erstarren. Letzteres darf aber nicht so rasch eintreten, dass die Masse nicht Zeit hat, sich etwas auszubreiten und in die Zwischenräume, die beim Verschliessen gefüllt werden sollen, vorzudringen. So dünnflüssig darf es indessen auch nicht sein oder bleiben, dass es auch dort hinfliesst, wo es nicht hin soll, z. B. zu weit über den Rand des Deckglases, und so die Untersuchung beschränkt. Auch der dritten Bedingung genügt ein flüssig bleibendes Mittel am besten; der vierten Bedingung dagegen am wenigsten, bei einer gewissen Zähigkeit jedoch auch noch in einem meist hinreichenden Grade.

Die gebräuchlichsten **Verschlussmittel** für die hier erörterten Fälle sind: a) verschiedene Oele und Paraffinum liquidum, b) Vaselin und ähnliche Stoffe, c) Paraffin, Wachs, Klebwachs, Terpentinharz und dergl.

Die erste Bedingung erfüllen alle drei Gruppen in ganz befriedigender Weise. Die zweite Bedingung erfüllen die Oele am besten. Ebenso auch die dritte; denn Terpentinharz oder andere Harze werden zu hart und sind schwer wegzukratzen, und auch Paraffin-, Wachs- oder Klebwachs-Rahmen sind nur dann leichter als Oelrahmen zu entfernen, wenn sie nicht gut am Glase kleben (wenn das Glas feucht war) und dann schliessen sie auch sehr mangelhaft. Am sichersten schliessen ebenfalls die Oelrahmen; weniger gut die von Vaselin. Auch ist Vaselin, obwohl leichter als die Gruppe c, weniger leicht als die Gruppe a aufzutragen.

Einen **Oelrahmen** zieht man am besten mit einem feinen Haarpinsel. Er kann von jeder beliebigen Dicke gemacht werden, muss aber, falls das Untersuchungsmedium bis zu dem Deckglasrande reicht, mindestens so dick sein, dass der Oelstreifen eine gleichmässige, convexe Oberfläche bekommt, auf welcher die Kante des Deckglases keinen Vorsprung verursacht — eine Bedingung, welche in solchen Fällen jeder Rahmen, einerlei aus welcher Masse er besteht, erfüllen muss. Wenn dagegen das Untersuchungsmedium nicht bis an den Rand des Deckglases reicht (z. B. weil dieses mit einer breiteren oder schmäleren Zone der Seitenwand der Zelle aufliegt oder aber diese nach aussen überragt), so genügt es, den bei einer gut gemachten Zelle blos capillaren Zwischenraum zwischen Deckglas und Seitenwand der Zelle oder jene vom Medium nicht eingenommene äussere Zone zwischen Deckglas und Objectträger mit dem Verschlussmittel zu füllen. Ja man

kann eventuell das Medium aus dieser Zone erst nachträglich durch das Verschlussmittel verdrängen.

Den **Rahmen von Paraffin**, Wachs, Klebwachs und dergl., die, mehrere Grade über ihren Schmelzpunkt erwärmt, mit einem heissen Metallspatel oder mit einer heissen Pipette aufgetragen werden, rathe ich blos für solche Fälle an, wo das Deckglas mit einer ziemlich breiten Zone der Seitenwand der Zelle sicher aufliegt. Solche Rahmen fallen nämlich sehr ungleich dick aus und schliessen, wie gesagt, meist nicht vollkommen, weshalb sie mit einem stark erhitzten, kleinen Spatel noch nachträglich zurecht gemacht werden müssen. Man biegt das Ende des Spatels in der Weise, dass es bei nahezu senkrechter Haltung eine nur wenig nach unten convexe, beinahe horizontale Fläche bildet, mit welcher man über den unebenen und ungleich dicken Rahmen hinwegfährt, wodurch er wieder schmilzt, sich glättet und gleichmässiger an das Glas schmiegt. Weiches Paraffin von niedrigerem Schmelzpunkt ist hier einem härteren von höherem Schmelzpunkt vorzuziehen.

Besser ist es mit den Mitteln der Gruppe c blos einen Oelverschluss, wo das Oel nicht über den Deckglasrand hervorragt (so bei der Ricinusölzelle), zu verstärken und überhaupt das Deckglas blos zu befestigen. Einige an entsprechenden Stellen mit der erhitzten Pipette aufgetragene kleine Tropfen genügen. Terpentinharz verdient in dieser Beziehung den Vorzug. Es muss jedoch mit einem erhitzten Metallinstrument, z. B. nach dem Gebrauch der Botaniker (s. Kronfeld [1] p. 345) mit dem Metalldreieck aufgetropft werden, da eine Glaspipette das dazu nothwendige stärkere Erhitzen schlecht vertragen würde.

Ebenfalls blos zum Verstärken eines anderswie gemachten Verschlusses können hier die Umrandungsmittel dienen, in welchen eine hart werdende Kittmasse von einem sich an der Luft verflüchtigenden Medium gelöst ist. So die alkoholische Siegellackmasse nach Paraffin-, Wachs- oder auch Oelverschluss, aber nur unter der Bedingung, dass das Oel sich nicht über den Deckglasrand ausbreitet.

Weiteres über die verschiedenen Umrandungsmittel und deren Anwendung beim provisorischen und definitiven Verschluss findet der Leser im XIV. Abschnitt.

Eine andere Massregel gegen die Verdunstung ist, die Luft, mit welcher die Oberfläche der Flüssigkeit, wo sich das Untersuchungsobject befindet, in Berührung kommt, mit Feuchtigkeit zu saturiren. Dieses kann natürlich blos dann geschehen, wenn sie sich in einem von der äusseren Luft abgeschlossenen Raume, also in einer Kammer befindet, welche wir die **feuchte Kammer** im engeren Sinne nennen.

Zur Sättigung der Atmosphäre der feuchten Kammer kann entweder die Verdunstung des Beobachtungsmediums selbst genügen, wenn der mit Dämpfen zu füllende Raum im Verhältniss zur Menge des Mediums sehr klein ist, so dass letzteres dadurch weder an Quantität noch an Qualität eine starke Veränderung erleidet. Andernfalls muss in der feuchten Kammer eine besondere Wassermenge zu diesem Zweck vorhanden sein, welche von dem Untersuchungsmedium räumlich getrennt ist. Diese Wassermenge darf wieder nicht so gross sein oder wenigstens keine so grosse verdunstende Oberfläche besitzen, dass sie den Raum mit Wasser übersättige, welches Wasser das Untersuchungsmedium aufnehmen und so eine qualitative Veränderung erleiden, an Concentration verlieren könnte, was unter Umständen abnorme Verhältnisse für die zu beobachtenden Elemente (z. B. rothe Blutkörperchen, die in dieser Beziehung sehr empfindlich sind) schaffen würde.

Wir unterscheiden zwei Arten von feuchten Kammern: a) für Untersuchungen auch ohne Deckglas, b) für Untersuchungen im hangenden Tropfen. Von beiden sind sehr verschiedene Formen in Gebrauch.

Die älteste Form der **feuchten Kammer**, die von Recklinghausen [3] 1863, gehört in die erste Kategorie und wurde direct **für Untersuchungen ohne Deckglas** empfohlen (p. 162).

Das Princip der Einrichtung ist, dass das Objectiv des Mikroskopes mit in den feuchten Raum gesteckt wird. Dies hat so viel wie gar keinen praktischen Werth, falls das Object, das sich einfach auf dem Objectträger befindet, mit dem Deckglase bedeckt werden soll, denn man kann in diesem Fall leichter und bequemer anderswie einen Verschluss des Präparates herstellen, welcher das Verdunsten des Mediums vollkommen verhindert; so ist z. B. bei Untersuchung von Blut oder Lymphe, für welche die feuchte Kammer ursprünglich bestimmt war, die Ricinusölzelle (s. p. 233-334) ganz gut, sogar wenn eine höhere Temperatur als die des Laboratoriums während der Untersuchung constant zu erhalten ist.

Dagegen ist bei einer Untersuchung, die die Anwendung eines Deckglases nicht zulässt, wenn die Verdunstung doch vermieden werden soll, eine feuchte Kammer im Sinne Recklinghausen's unvermeidlich. Gut ist sie aber auch dann nur in dem Fall, wenn man zur Beobachtung blos solche Objective braucht, deren Arbeitsabstand so gross ist, dass die Frontlinse nicht bis an die Oberfläche der Flüssigkeit gesenkt werden muss. Die Frontlinse in die Flüssigkeit zu tauchen, wäre, wenn auch das System für Wasserimmersion eingerichtet ist, obwohl früher direct empfohlen, ganz irrationell. Schon die geringste Bewegung der Linse oder des Objectträgers würde das Object aus dem Gesichtsfeld bringen, und ohne solche Bewegungen ist eine richtige Einstellung von vornherein unmöglich und eine genaue Beobachtung unausführbar. Wasserdämpfe beschlagen übrigens auch eine weiter abstehende Frontlinse, was oft sehr stören kann, am wenigsten jedoch bei den schwäch-

sten Vergrösserungen; dieses dadurch zu verhüten, dass man (nach Harting [1] Bd. II p. 100) mit der Frontlinse „über die Handfläche streift, wobei sich eine ganz dünne Fettschicht auflagert“, würden wir auch nicht rathen, da letztere der Beobachtung doch Eintrag thut.

Wir sehen also, dass die Recklinghausen'sche feuchte Kammer blos bei einer Untersuchungsweise nothwendig ist, welche selbst lieber vermieden werden soll. Wo sie nicht vermieden werden kann, ist auch nicht die ursprüngliche Form von Recklinghausen anzurathen.

Er schlug nämlich vor, die feuchte Kammer in der Weise zu verfertigen, dass man den untersten Theil eines Lampencylinders oder das obere Ende „von den Standgefässen für Alkohol- oder Urinprober“ (Recklinghausen [3] p. 162) in einer passenden Länge absprenge, den engen Theil des abgesprengten Stückes über den unteren Theil der Mikroskopröhre (das Objectivsystem) schiebe, wo er fast vollständig schliessen soll, während der untere weite Theil auf dem grossen Objectträger ruht und unten so gut abgeschliffen ist, dass, nachdem alles vollständig eingestellt ist, ein Oeltropfen auch hier den Abschluss herbeiführt. Ein auf die Seitenwand der so hergestellten Zelle in doppelter Lage gelegter benetzter Streifen von Fliesspapier sättigt den abgesperrten Raum mit Feuchtigkeit. — Den Verschluss an der Mikroskopröhre vervollständige man durch eine rund herumgewickelte und am Glase und am Objectiv fest angebundene dünne Kautschuklamelle oder aber durch ein Stück dünnwandiger Kautschukröhre, so indessen, dass für das Heben und Senken des Tubus genug Spielraum bleibe. Auch gewisse Verschiebungen des Objectträgers bei weiteren Einstellungen ermöglicht diese Einrichtung, sobald das untere Ende des Glascylinders dem Spiegelglasobjectträger genau aufgeschliffen ist, damit er leicht darauf gleite und dabei der Oelverschluss nicht unterbrochen werde.

Hat man aber nicht blos mit kleineren Tropfen vom Untersuchungsmedium, sondern mit etwas grösseren Quantitäten zu thun, worin sich die Objecte vielleicht auch frei bewegen sollen, und welche auf dem Objectträger durch Cohäsion und Adhäsion nicht mehr in der Mitte der Kammer zusammengehalten werden können, so muss man zu einer späteren **Modification der Recklinghausen'schen feuchten Kammer** seine Zuflucht nehmen. Bei dieser bildet den unteren Theil der Kammer eine weitere Glaszelle, die, mit Flüssigkeit gefüllt, auch als kleines Aquarium dienen kann. Ein Glasring wird nämlich auf den Objectträger aufgekittet und dient als Seitenwand der Zelle, und der feuchte Raum wird dadurch abgesperrt, dass um den Glasring ein Kautschukärmel gebunden wird, in dessen andere Oeffnung man in passender Höhe das Objectiv einbindet (s. bereits 1867 bei Frey [2]). Dadurch wird auch dem Heben und Senken des Tubus ein viel grösserer Spielraum gegeben. Innerhalb des äusseren Ringes klebe ich noch einen engeren Ring von derselben oder, wenn es der Arbeitabstand des Objectivs erlaubt, auch von etwas grösserer Höhe auf den Objectträger. Das Object

bringe ich in diesen inneren Behälter, damit es sich nicht in die Nähe der Seitenwand des feuchten Raumes begeben kann, wo es vielleicht nicht mehr einstellbar wäre. Das Wasser, welches die abgesperrte Atmosphäre mit Feuchtigkeit zu sättigen hat, giesse ich in den Raum zwischen inneren und äusseren Glasring. Hier kann ich auch die Algen, welche, wie gleich geschildert werden soll, den frischen Sauerstoff besorgen, in der nothwendigen Menge anhäufen, ohne der Untersuchung Eintrag zu thun.

Viel wichtiger, namentlich für feinere histologische Beobachtungen, sind die **feuchten Kammern**, welche **für Untersuchungen im hangenden Tropfen** eingerichtet sind. — Das Untersuchungsmedium wird in Form eines Tropfens auf die Mitte des Deckglases gebracht, dieses vorsichtig umgekehrt und mit dem Tropfen nach unten der Zelle aufgelegt, so dass der Tropfen in das Lumen der Zelle hineinhängt, aber nicht bis zu ihrem Boden reicht. Eine solche feuchte Kammer ist also jede gut schliessende Zelle, welche tiefer ist als der Tropfen dick. Je flacher der Tropfen sein kann, um so besser; einerseits weil dadurch die zu untersuchende Schichte um so dünner wird, und andererseits weil auch die Seitenwände der Kammer um so niedriger sein dürfen, wodurch das Object um so weniger hoch über dem Objecttisch liegt, also um so besser beleuchtet werden kann. Beides sind grosse Vortheile, besonders bei feinen Beobachtungen mit starken Vergrösserungen. Auch sonst sind die Dimensionen der Kammer am besten so gering zu nehmen, dass der hangende Tropfen die Seitenwände eben nur nicht berührt; dann braucht entweder gar keine Flüssigkeit oder nur sehr wenig ausser dem Untersuchungstropfen in der Kammer vorhanden zu sein.

Die gebräuchlichsten Formen sind die feuchte Kammer von Kühne, Selenka, die feuchte Kammer mit überhängender Seitenwand und die modificirte Ranvier'sche Zelle. Neben diesen wollen wir eine Combination der Zelle von Kühne und Selenka, und endlich die feuchten Kammern erwähnen, welche nach dem Princip der H. L. Smith'schen Kammer mit Flüssigkeit versehen werden.

Die **feuchte Kammer** von Kühne (oder Böttcher), welche aus einem Glasring besteht, in der Mitte des Objectträgers aufgekittet, ist weniger praktisch als die **feuchte Kammer** von Selenka ([1] p. 41), bestehend aus einem Ring von circa 40 mm Durchmesser und 12-20 mm innerer Oeffnung, verfertigt aus circa 3 mm dickem Spiegelglas. Wird ein solcher Ring, besonders wenn er mattgeschliffen ist, auf den Objectträger von entsprechender Grösse mit einer Spur von Ricinusöl

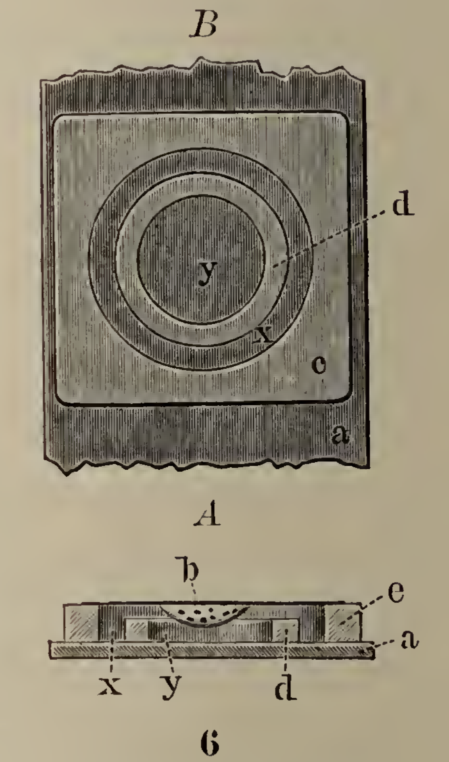
aufgedrückt, so steht er dort so fest, dass er kaum zu verschieben ist. Da ich hier gewöhnlich viereckige Deckgläser den runden vorziehe, so benutze ich auch anstatt Ringen **quadratische Spiegelglasplatten mit rundem Loch**, wo das Deckglas bei gleichem Durchmesser der Kammer mit einer grösseren Fläche, also sicherer aufliegt. Untersucht man in Seewasser, wie Selenka die Echiniden-Embryonen untersuchte, so genügt es, einen Tropfen zufliessen und sich unter dem Glasring durch Capillarattraction ausbreiten zu lassen, um eine Befestigung und einen genügenden Verschluss herbeizuführen, denn das Salz des Seewassers krystallisirt an den Berührungsstellen mit der Luft aus und verhütet die Verdunstung des übrigen Wassers. Derselbe Verschluss genügt hier auch für das Deckglas. Sonst ist es besser, auch dafür etwas Ricinusöl zu nehmen.

Die **feuchte Kammer mit überhangender Seitenwand** (nach Selenka mit Doppelschliff) besteht aus zwei Spiegelglasplatten. Die untere trägt in der Mitte eine etwa $1^1/_2$ mm tiefe, ringförmige Furche, ähnlich wie der Objectträger für die Ranvier'sche Zelle. Die Mitte der oberen Platte ist durch einen sich nach unten erweiternden, muldenförmigen Einschliff mit einem runden Loch versehen, welches gerade über die Fläche innerhalb der kreisförmigen Rinne zu liegen kommt so, dass die Kammer überhangende Seitenwände erhält. Auf das Loch wird das Deckglas mit dem hangenden Tropfen gelegt. Für das Wasser, welches den Raum mit Feuchtigkeit sättigen soll, ist die ringförmige Rinne bestimmt. Bei der gewöhnlichsten, käuflichen Form dieser Zellen ist die untere Platte quadratisch von circa 5 cm Seite, die obere kreisförmig von demselben Durchmesser, der Durchmesser des inneren Umkreises der Rinne und der oberen Mündung des Loches 8-12 mm, der des äusseren Umkreises der Rinne und der unteren Mündung des Loches in der Deckelplatte um etwa 8 mm mehr. Ich verwende lieber eine längliche Form der unteren Platte von etwa 9 resp. 4 cm Seite und eine quadratische der oberen von 4 cm Seite. Den Verschluss bewirke Ricinusöl in der oben geschilderten Weise. Solche Zellen haben auch bei Anwendung von kleineren Deckgläsern den Vortheil des ganz sicheren Verschlusses und einer genügenden Unverschiebbarkeit auch ohne erhärtende Kittmassen; was allerdings heute weniger ins Gewicht fällt als früher, wo sehr dünne und ganz ebene Deckgläser blos von geringeren Dimensionen zu haben waren.

Die Ranvier'sche **Zelle** wird einfach dadurch zu einer für Untersuchung im hangenden Tropfen geeigneten **feuchten Kammer**, dass man den Unterschied zwischen dem Niveau des Objectträgers innerhalb und

ausserhalb der Rinne grösser macht, als die Dicke des Tropfens. Man achte darauf, in die Rinne nicht so viel Wasser zu giessen, dass es über den Innenrand unter den Tropfen fliesst.

Um bei gleicher Entfernung des Deckglases von der Lichtquelle (Beleuchtungsapparat) Raum für einen grösseren Tropfen und dazu eine tiefere Rinne für das Wasser zu bekommen, stelle ich eine **Doppelkammer**, indem ich die Zellen von Kühne und Selenka in der folgenden Weise combinire, her. Für einen Objectträger englischen Formats aus Spiegelglas (a in Figur 6), welches nicht dicker als höchstens $1^1/_2$ mm zu sein braucht, und ein quadratisches Deckglas (*b*) von 22 mm Seite (ein für ähnliche Untersuchungen sehr zu empfehlendes Format) nehme ich eine quadratische Spiegelglasplatte (*c*) von 24 mm Seite und 2-4 mm Dicke mit einem kreisförmigen Loch von 18 mm Durchmesser. Dazu kommt ein Ring aus blos 1-3 mm dickem Spiegelglas (*d*) von 14 mm Durchmesser und 10 mm innerer Oeffnung, also 2 mm Breite. Viereck und Ring sind dem Objectträger genau aufgeschliffen, die unteren Flächen von ersteren (vom Viereck auch die obere Fläche für das Deckglas) am besten matt geschliffen. Diese werden mit einer Spur von Ricinusöl bestrichen. Nun wird zuerst der Spiegelglasring unter drehender Bewegung der Mitte des Objectträgers stark aufgedrückt, dann das Glasviereck so, dass um den Glasring herum eine 2 mm breite Rinne, welche 1-3 mm Tiefe besitzen wird, für das Wasser entstehe. Das Deckglas, in der Mitte mit dem hangenden Tropfen, dessen grösster Durchmesser 10 mm nicht überschreite, liegt dem Viereck *c* mit einer mindestens 2 mm breiten Zone auf. Sind die Bestandtheile dieser Kammer, welche sich sehr gut auch zum Beobachten der Einwirkung von Dämpfen, die sich aus einer Flüssigkeit in der Rinne entwickeln (z. B. Osmiumdämpfen, s. im V. Abschn.) eignet, gut gearbeitet, so brauchen sie miteinander nicht dauernd verkittet zu werden: die capillare Ricinusölschichte verbindet sie fest miteinander und sichert einen luftdichten Verschluss. Dadurch lässt sich die Kammer natürlich viel leichter reinigen, als wenn ihre Bestandtheile dauernd verkittet wären.



Combinirte Kammern für den hangenden Tropfen. A im verticalen Durchschnitt, B von oben gesehen. *a* Objectträger, *b* Deckglas mit dem hangenden Tropfen, *c* äussere Zelle, *d* innerer Ring, *x* Raum für Wasser, Algen etc., *y* centraler Raum für den Tropfen.

Die nothwendige Feuchtigkeit in der Kammer kann man endlich nach dem Princip der H. L. SMITH'schen Kammer (H. L. SMITH [1] 1865, Ref. bei M. SCHULTZE [10], auch HARTING [1] Bd. III, p. 342) in der Weise einfach besorgen, dass man einen Objectträger etwas seitlich von der Mitte durchbohrt (Durchmesser des Loches 1-2 mm), ein Glasviereck von der oben geschilderten Beschaffenheit *c*, (Figur 6 hier indessen besser von geringerer Dicke, etwa 2 mm und blos 10 mm innerer Oeffnung) und in der angegebenen Weise so auflegt, dass das Loch in die Nähe der Peripherie innerhalb der runden Oeffnung zu liegen komme, den Objectträger auf einen anderen, etwas grösseren legt und sie miteinander, am Rande des oberen, an einigen Punkten mit etwas Terpentinharz verkittet. Durch Capillarattraction wird zwischen beiden etwas Wasser eingesaugt. Die Verdunstung dieser Wasserschichte durch das Loch versieht die Kammer, in welcher sich das Object im hangenden Tropfen befindet, für beliebige Zeit mit der nothwendigen Feuchtigkeit, wenn man dem capillaren Reservoir zwischen den beiden Objectträgern von Zeit zu Zeit (z. B. alle 2-3 Tage) etwas Wasser zusetzt. Aehnlich, aber, da dort die zwei gleich grossen Objectträger durch Gummibänder zusammengehalten werden, weniger praktisch ist die Einrichtung von J. DEBY 1880 [1].

§ 24.

Erhalten der Lebensbedingungen des Objectes während der Untersuchung: Zufuhr von frischer Flüssigkeit. Circulationskammer.

Die dritte Methode, das Eintrocknen zu verhindern, ist die Zufuhr von neuer Flüssigkeit während der Untersuchung nach Massgabe der Verdunstung. Diese Methode empfehle ich nur dann, wenn das neu zugeführte Quantum entweder blos zur Sättigung des feuchten Raumes mit Wasserdämpfen dient und sich mit jener Flüssigkeit, in welcher sich das Object befindet, nicht mischt (also wenn sich letzteres im hangenden Tropfen oder innerhalb des inneren Ringes in der Kammer für Untersuchung ohne Deckglas [p. 243] befindet), oder die alte Flüssigkeit beim Zuströmen der neuen in derselben Menge stets weggeleitet wird. Durch die Verdunstung concentrirt sich nämlich das Untersuchungsmedium bei stetiger Zufuhr von neuen Quantitäten allmählich in der Weise, dass das Object unter ganz unnatürliche Verhältnisse kommt. Ist das Medium auch nur Quellwasser, so wird es z. B. an Kalkgehalt bald so reich, dass die Organismen darin nicht mehr, oder wenigstens nicht normal weiter leben können. Es müsste blos das und so viel zugeführt werden, was und wie viel die Verdunstung entfernt. Führte man also auch blos destillirtes Wasser zu, so würde es beinahe unmöglich sein, das richtige Quantum zu treffen, damit das Untersuchungsmedium weder verdünnt werde noch eindicke.

Deshalb würde ich z. B. von der Benutzung der feuchten Kammer von H. L. Smith nur abrathen. (Eine Einrichtung derselben als Circulationskammer siehe weiter unten.)

Dagegen ist die Einrichtung, welche Strassburger als **feuchte Kammer** empfohlen hat, für viele Zwecke sehr praktisch. Man schneidet sich viereckige Zellen mit runder Oeffnung aus Löschpapier von etwas längerer Seite als das anzuwendende Deckglas. Von diesen legt man so viele aufeinander, wie man die Zelle hoch machen will. Das Object kommt in den hangenden Tropfen über der Oeffnung, so weit vom Papier wie nur möglich. Die zu oberst kommende Lage des Papiers durchtränke ich mit Ricinusöl, die unteren werden mit Wasser befeuchtet aufgelegt. Dadurch, dass man von Zeit zu Zeit etwas Wasser den Seiten der Zelle zufliessen lässt, sättigt man den Innenraum mit Feuchtigkeit, ohne die Zusammensetzung des Untersuchungsmediums zu verändern und ohne es ganz von der äusseren Luft abzuschliessen, was für das Gedeihen mancher Culturen von Wichtigkeit ist.

Indessen giebt es Objecte, denen eine, wenn auch etwas überschüssige Zufuhr von sterilisirtem, destillirtem Wasser nichts schaden kann, so z. B. die Infusorien des Heuaufgusses, welcher ja selbst mit destillirtem Wasser zubereitet ist, zumal da in die Zelle unter dem Mikroskop auch Heufragmente mit hinein gebracht werden. Eine sehr praktische Einrichtung zu diesem Zwecke ist die von Rhumbler [1] bei Untersuchungen über die Cystenbildung und Entwickelung des Infusoriums Colpoda benützte. Sie kann, wie gleich gezeigt wird, mit geringer Modification auch zum stetigen, vollkommenen Wechseln einer Flüssigkeit unter dem Deckglase durch Verdunstenlassen der alten Flüssigkeit, aber *ausserhalb der Zelle*, dienen.

Bei einer gut schliessenden feuchten Kammer ist die nachträgliche Zufuhr von Flüssigkeiten gegen die Verdunstung zwar meist unnöthig, aber es ist oft von grösster Wichtigkeit, eine regelmässige, je nach der Natur der Organismen raschere oder langsamere **Circulation des Untersuchungsmediums** während der Beobachtung aufrecht zu erhalten, bei welcher gerade so viel frische Flüssigkeit zuströmt, wie alte wegfliesst.

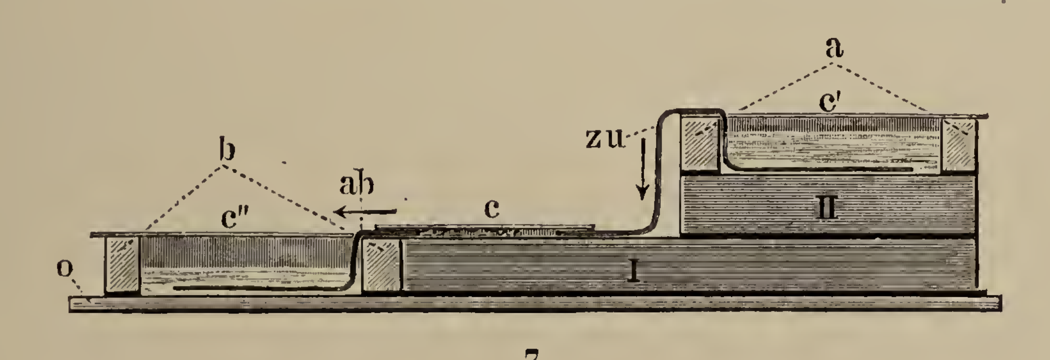
Solche Einrichtungen kann man sich leicht selbst zusammenstellen. Die dazu nothwendigen Bestandtheile sind ausser dem Objectträger, welcher die Zelle für das Untersuchungsobject trägt: a) ein Reservoirgefäss, b) ein Abflussgefäss, c) die Zuflusseinrichtung, d) die Abflusseinrichtung, e) die Einrichtung, welche den Strom durch die Zelle führt.

In der einfachsten, jedoch für manche Zwecke, besonders für kürzere Untersuchungsdauer, wo das Präparat fortwährend unter Aufsicht bleibt, genügenden Weise wird der Zu- und Abfluss bei einer **langsamen Circulation** von Alters her durch je einen Faden von Wolle (Seide oder dergl.) oder Streifen von Löschpapier, die in die Zelle hineinragen, eventuell einfach an entgegengesetzten Seiten unter das

Deckglas geschoben werden, vermittelt. Der zuführende Faden kommt aus einem etwas höher stehenden Gefäss, der ableitende, welcher ebenso dick ist, als der andere, hängt in ein tiefer stehendes hinein. Beide Gefässe können auf passenden Postamenten neben dem Mikroskop, rechts und links vom Objecttisch stehen, wo sie indessen bei der Beobachtung leicht hinderlich werden.

Deshalb bringe ich beide auf dem Objectträger selbst an, und möchte diese Einrichtung **Stufenobjectträger** nennen.

Ich klebe nämlich aus einem gewöhnlichen Objectträger englischen Formats und zwei Spiegelglasstücken einen Objectträger zusammen, welcher drei Stufen bildet. Auf der höchsten Stufe rechts steht das Reservoirgefäss a in Figur 7, eine aufgeklebte höhere Glaszelle (wie c in Figur 6), mit einem Deckglas so bedeckt, dass der Faden oder der Papierstreifen am Rande des Deckglases eben hineingeleitet werden kann. Auf der niedrigsten Stufe links dient dieselbe Einrichtung als Abflussgefäss. Auf der mittleren Stufe, in einer maximalen (bei Benützung des Condensors schon zu grossen) Höhe von 8-10 mm, vom Objecttisch gerechnet, befindet sich die Zelle mit dem Untersuchungsobject *c*. Wenn die Fäden, oder hier besser die Löschpapierstreifen, vor dem Deckglas und von vornherein befeuchtet in der richtigen Entfernung von einander auf dem Objectträger festgelegt werden, so kann man auch einen (oder zwei) Rahmen von Ricinusöl quer über sie hinweg für die Seitenwände der Zelle ziehen (s. p. 233), in welche sie hineinragen, um die Flüssigkeit ein- und auszuleiten. Je breiter und dicker der Streifen, um so rascher der Wechsel der Flüssigkeit in der Zelle, am raschesten, wenn die ganze rechte und linke Seitenwand von den Enden der Streifen gebildet wird.



7

Stufenobjectträger für Circulation. *o* Objectträger, *a* die obere (Reservoir-), *b* die untere (Abfluss-) Zelle, *c* Deckglas über dem Object, *c' c''* Deckgläser der Reservoir- und Abflusszelle, *zu* zuleitender, *ab* ableitender Streifen von Papier, Seide und dergl. I untere, II obere Spiegelglasplatte.

Längere Zeit, also z. B. über Nacht, kann man indessen diese Einrichtung, wie erwähnt, sich nicht selbst überlassen. Das Reservoir würde, bei richtig gewählten Leitungsstreifen oder Fäden, auch für 24 Stunden genügen, und doch wäre der Wechsel der Flüssigkeit in der Zelle für sehr viele Objecte nicht zu langsam. Leicht kann sich aber die Leitung (die Wolle weniger als das Papier) ganz oder zum Theil an irgend einem Punkte verstopfen und dadurch die ganze Einrichtung nutzlos werden, ja es könnte sogar der Inhalt der Zelle weggesogen werden und verdunsten.

Dieser Gefahr ist die **Einrichtung von** J. af Klercker ([1], etwas verbessert durch A. Scherffel [1]) nicht ausgesetzt; bei ihr muss man aber mit den unbequemen zwei Gefässen (Reservoirgefäss und Abflussgefäss) an den Seiten des Mikroskops vorlieb nehmen.

Der Boden der Zelle ist der gewöhnliche Objectträger, die Decke das Deckglas; die vordere und hintere Wand je ein Glasstreifen, aus einem Deckglas von passender Dicke geschnitten und in der Weise aufgeklebt, dass das Deckglas ihnen breit genug aufliegt, jedoch vorne und hinten nicht ganz bis an ihren Rand reiche. Es wird nämlich hier mit zwei Tropfen von Terpentinharz befestigt (Scherffel), anstatt nach Klercker durch Gummiringe mit dem Objectträger verbunden zu werden, was einen zweiten Objectträger als Unterlage für den das Object eigentlich tragenden nothwendig machte. Die Seitenwände der Zelle bilden zwei Leinwandlappen, deren zurechtgeschnittene Enden nach Benetzung mit Wasser zwischen die Glasstreifen, wo sie gerade hineinpassen, und etwas unter das Deckglas geschoben werden. Das Object wird mit einem nicht zu grossen Tropfen Wasser auf den Objectträger in die Mitte zwischen den Glasleisten gebracht, damit das Wasser beim Bedecken mit dem horizontal gehaltenen Deckglas nicht zwischen diese und die obere Fläche der Seiten, die ich sehr dünn mit Ricinusöl bestreiche, hineinlaufe. Um die ganze Zelle zu füllen, lässt man vor dem Hineinschieben der Leinwandstreifen mit fein ausgezogenen Pipetten von beiden Seiten auf einmal gleichmässig etwas vom Untersuchungsmedium zufliessen, damit das Object von der Mitte nicht weggeschwemmt werde. Die saugenden Leinwandlappen, die die Seitenwände der Zellen bilden, stehen beiderseits etwa 1-2 cm lang hervor und schmiegen sich dem Objectträger glatt an. Sowohl der Zu- wie der Abfluss wird durch andere Leinwandstreifen vermittelt, die den Sauglappen aufliegen. Das andere Ende des Zuflussstreifens ist in die Ausflussöffnung einer aus dem Reservoirgefäss vollgesogenen kleinen Heberröhre von Glas in der Weise hineingezwängt, dass das Wasser nur noch tropfenweise hinausfliesst. Der Abflussstreifen hängt in das Abflussgefäss hinein. Bei dieser Einrichtung kann man das Object, besonders wenn das Reservoirgefäss mit einem Niveauständer verbunden ist, beliebig lang ohne Gefahr des Austrocknens, aber auch ohne die einer Fortschwemmung durch einen zu starken Strom stehen lassen. Letzteren kann man übrigens in der Weise am einfachsten unmöglich machen, dass man ein Stückchen Zeug von passender Fadendicke und Maschenweite mit unter das Deckglas legt.

Bequemer ist, falls die Circulation sehr langsam sein kann, die oben erwähnte **Einrichtung von** Rhumbler [1] mit gewissen geringen Modificationen.

Die Seitenwände der Zelle bilde ich hier erst nach dem Auflegen des Deckglases, und zwar aus Streifen von Filtrirpapier, die befeuchtet zurecht gelegt werden, und zwar erst der für die vordere und der für die hintere Wand. Diese sind so lang, wie das Deckglas. Der Papierstreifen, welcher den Verschluss der Zelle nach rechts bildet, ist so lang, wie die noch offen gebliebene Seite der Zelle und nur 1½-2 mm breit. Er muss dem Deck-

glasrand überall hart anliegen, höchstens wenig darunter geschoben werden und deshalb sehr sorgfältig gerade zurechtgeschnitten sein. Dasselbe gilt von der Schmalseite eines anderen, viel grösseren viereckigen Papierstreifens, die die linke Wand der Zelle zu bilden hat. Den Zufluss besorgt eine äusserst feine, U-förmige Capillarröhre aus Glas. Der eine Schenkel von ihr ist in ein Reagensglas, das als Reservoir dient, getaucht, welches auf dem Objecttisch des Mikroskops, neben der Mikrometerschraube befestigt ist; der andere Schenkel berührt gerade mit seiner Mündung den schmalen Löschpapierstreifen rechts vom Präparat, hart am Deckglasrande. Den Abfluss aus der Zelle besorgt die saugende Wirkung des grossen Löschpapierstreifens links vom Deckglase, und das Entfernen der weggesogenen Flüssigkeit einfach die Verdunstung an der Oberfläche des grösseren Löschpapierstreifens. So viel Flüssigkeit wie am rechten Rande des Deckglases zum Präparat strömt, muss am linken Rande weggesogen werden und ausserhalb der Zelle verdunsten. Wie dünn die Capillarröhre einerseits und wie gross die Verdunstungsfläche des grossen Papierstreifens bei der gewünschten Stromgeschwindigkeit, die noch keine passiven Ortsveränderungen der Gegenstände unter dem Mikroskop verursacht, zu sein braucht, damit ein Gleichgewicht zwischen Zufluss und Abfluss, beziehungsweise Verdunstung entstehe, stellt man leicht an Probezellen vor der eigentlichen Untersuchung fest. Einige Cubikcentimeter Flüssigkeit im Reagensglas genügen für den nothwendigen Wechsel des Untersuchungsmediums Tage lang. Sämmtliche Substanzen, welche im Untersuchungsmedium gelöst sind, häufen sich bei unserer Einrichtung in Folge der Verdunstung nicht in der Zelle (die vordere und hintere Seite ist noch durch Ricinusöl verschlossen), sondern im grossen Filtrirpapierstreifen ausserhalb der Zelle. Dieser füllt sich auch mit ihnen allmählich, wird verstopft, saugt nicht mehr gut und muss deshalb von Zeit zu Zeit, etwa jeden Tag, durch einen neuen, mit destillirtem Wasser vorher befeuchteten Streifen ersetzt werden[1].

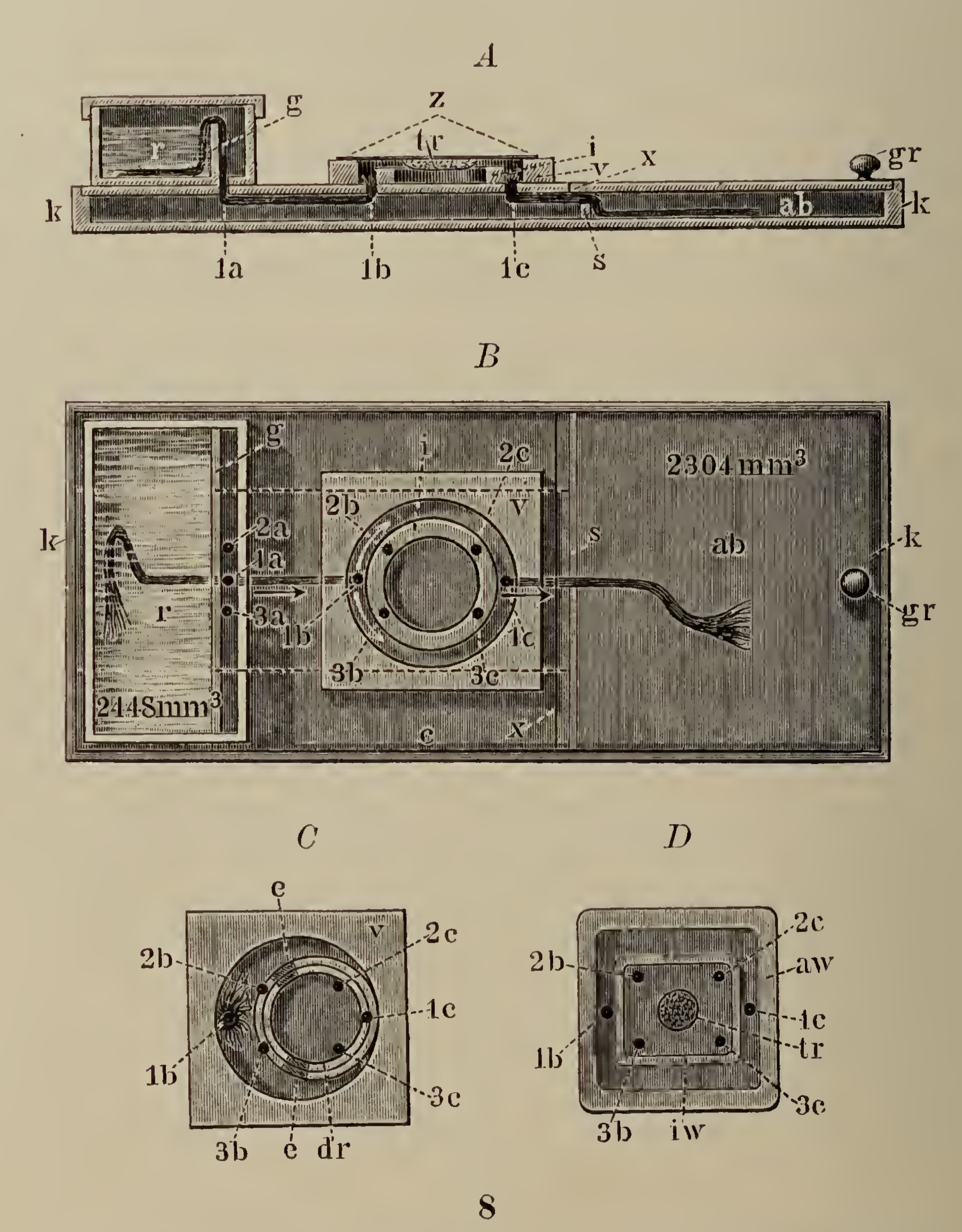
Derjenige, dem auch das Reagensgläschen Rhumbler's auf dem Objecttisch ungelegen ist, kann sich auch für Untersuchungen während des Lebens ohne mechanische Eingriffe des **Circulationskästchens** bedienen, welches mir besonders bei Beobachtungen, die in anderen Abschnitten dieses Buches zu erwähnen sind, gute Dienste leistete.

Es besteht aus einem Glaskästchen (*k* in Figur 8), ungefähr wie die H. L. Smith'sche feuchte Kammer, vom englischen oder besser etwas grösseren Objectträgerformat, z. B. von 9 und 4 cm Seite, für ähnliche Untersuchungen

---

[1]) Rhumbler liess sein Untersuchungsmedium, sterilisirten und filtrirten Heuaufguss, in welchem Colpoden besonders gut gedeihen, zwar stetig zufliessen, sorgte aber für die Entfernung von derselben Menge Untersuchungsmediums aus der Zelle nicht, sondern überliess dies einfach dem Verdunsten am Deckglasrande. Nun verdunstete natürlich blos Wasser, aber alles, was darin gelöst war, musste sich in der Zelle anhäufen und dort unnatürliche Verhältnisse schaffen, wobei die Beobachtungen selbst nicht mehr vorwurfsfrei bleiben konnten, wenn auch die Thiere fortlebten.

sehr zweckmässige Dimensionen. (Der Holzschneider hat die angegebenen Dimensionen auch hier verändert). Das Kästchen ist aussen 5 mm, im Lichten 3 mm hoch, indem der Boden und der eingefalzte, abnehmbare Deckel je 1 mm stark sind. Der Deckel besteht aus zwei genau zusammenpassenden Stücken, das eine um ein Drittel kleiner als das andere. (Das Stück links



8

Circulationskästchen. A verticaler Durchschnitt. B Ansicht von oben, C Zelle mit Doppelring von Glas zum Ausspannen von Membranen. D die Oelrahmen einer Ricinusölzelle und ihre Lage zu den Löchern für die Wollfäden. *r* Reservoirkästchen, *k* Glaskästchen als Objectträger, *gr* Knopf zum Abheben der Deckelplatte rechts von der Linie *x*, *ab* Abflussraum, *g* Querwand im Reservoirkästchen, *s* Septum, welches den Abflussraum der Büchse abtrennt. 1a, 2a, 3a, 1b, 2b, 3b, 1c, 2c, 3c Oeffnungen, wo die zu- und ableitenden Fäden durchgeführt werden. *v* viereckige Glaszelle mit runder Oeffnung, *i* innerer Glasring, *dr* Doppelring, *e* Einschnitt am unteren Rand der Ringe, *aw* äusserer, *iw* innerer Wall von Ricinusöl, *tr* Tropfen mit dem Untersuchungsobject.

von der Linie *x* in Figur 8 B ist 52½ mm, das andere 35½ mm lang.) Auf dem Kästchen *k* steht links ein kürzeres, aber höheres viereckiges Kästchen *r*, das Reservoirgefäss (hier 13 mm lang, 36 mm breit und 9 mm hoch), dessen Boden auf den hier mattgeschliffenen Deckel von *k* aufgeschliffen ist

und dort blos durch eine capillare Oelschichte klebt. Das Reservoirgefäss *r* (Seitenansicht in A, obere Ansicht in B), mit einem gut schliessenden Deckel bedeckt, ist durch ein Septum *g* in zwei ungleich grosse Theile getheilt. Unmittelbar neben dem Septum befinden sich im Boden von *r* in der schmäleren Abtheilung 3 Löcher, ungefähr 1 mm gross und 2-3 mm weit voneinander (1 a, 2 a, 3 a); der obere Rand des Septums ist an entsprechenden 3 Stellen 2 mm tief eingeschnitten. Einschnitte und Löcher dienen dazu, um je ein Bündelchen von saugenden Wollfäden hindurch zu ziehen, die durch zwei Löcher in der oberen Wand des Kastens *k* geführt werden und die Flüssigkeit von *r* dicht unter dem Deckel von *k* durch die Löcher 1 b, 2 b und 3 b in die Zelle, wo sich das Untersuchungsobject befindet, leiten. In genau so beschaffenen Dochten strömt die Flüssigkeit von der Zelle durch die Löcher 1 c, 2 c und 3 c hinaus und in das rechte Drittel des Kastens k hinein, welches ein Septum *s* mit drei 1 mm tiefen Einschnitten vom Raume unter der Zelle *z* trennt und so zu dem Abflussgefäss ab gestaltet. Die Dochte verlaufen unter der Deckelplatte in Halbcanäle eingeschlossen, die jedoch in der Figur nicht gezeichnet sind. Diese Halbcanäle sind zu je drei in zwei Spiegelglasplättchen von 1½ mm Dicke eingeschliffen, welche, mit den Furchen nach oben und dort mattgeschliffen und mit etwas Oel bestrichen, in passender Lage der Unterfläche der Deckelplatte angepresst werden und durch Capillarattraction fest halten. Die Canäle für die ableitenden Dochte reichen bis an den rechten Rand des betreffenden Glasplättchens und stossen mit ersterem an die Einschnitte des Septums *s*. In meinem Apparat ist die Capacität der Abflusskammer bis zu dem Einschnitt am Septum *s* so bemessen (2304 mm³), dass sie den Inhalt des Reservoirgefässes *r* (2448 mm³) ganz in sich aufnehmen kann, wenn es nicht ganz bis an die Einschnitte des Septums *g*, also 6 mm hoch gefüllt ist[1]. (Natürlich treffen diese Zahlen für die veränderten Dimensionen des Holzschnittes nicht zu.)

Zum Zu- und Ableiten wird, je nachdem ein rascherer oder langsamerer Wechsel des Mediums in der Zelle erwünscht, bald blos ein Docht benutzt, wie in Figur 8 B, bald zwei, wie bei der in C und D dargestellten Anordnung,

---

[1]) Man kann sich indessen, falls man auch das Reservoirgefäss *r* höher machen will (die sonstigen Dimensionen können bei diesem Format des Circulationskastens, ohne der Bequemlichkeit der Untersuchung selbst Eintrag zu thun, nicht gut grösser genommen werden), leicht eine ungefähr doppelt so grosse Abflusskammer machen dadurch, dass man durch zwei Längssepten und ein zweites Querseptum unter dem Septum *g* blos den Raum (in B mit punktirten Linien angedeutet) unter der Zelle und den zuleitenden Dochten abschliesst, im übrigen aber das ganze Kästchen als Abflusskammer benützt. Da man indessen den Deckel der Abflusskammer (rechts von der Linie *x*) leicht abheben, wozu auch der Knopf *gr* dient, und sie mit einer Pipette entleeren, das Reservoirgefäss dagegen nachfüllen kann, ohne die Einstellung unter dem Mikroskop zu verändern, so wird diese Vergrösserung blos in Fällen nothwendig sein, wo das Präparat länger als 24 Stunden sich selbst überlassen werden soll. Denn für 24 Stunden reicht der Inhalt des Reservoirs *r* (über 2 cm³) bei Benutzung von einem zu- und ableitenden Docht, wie in Figur 8 B, hin.

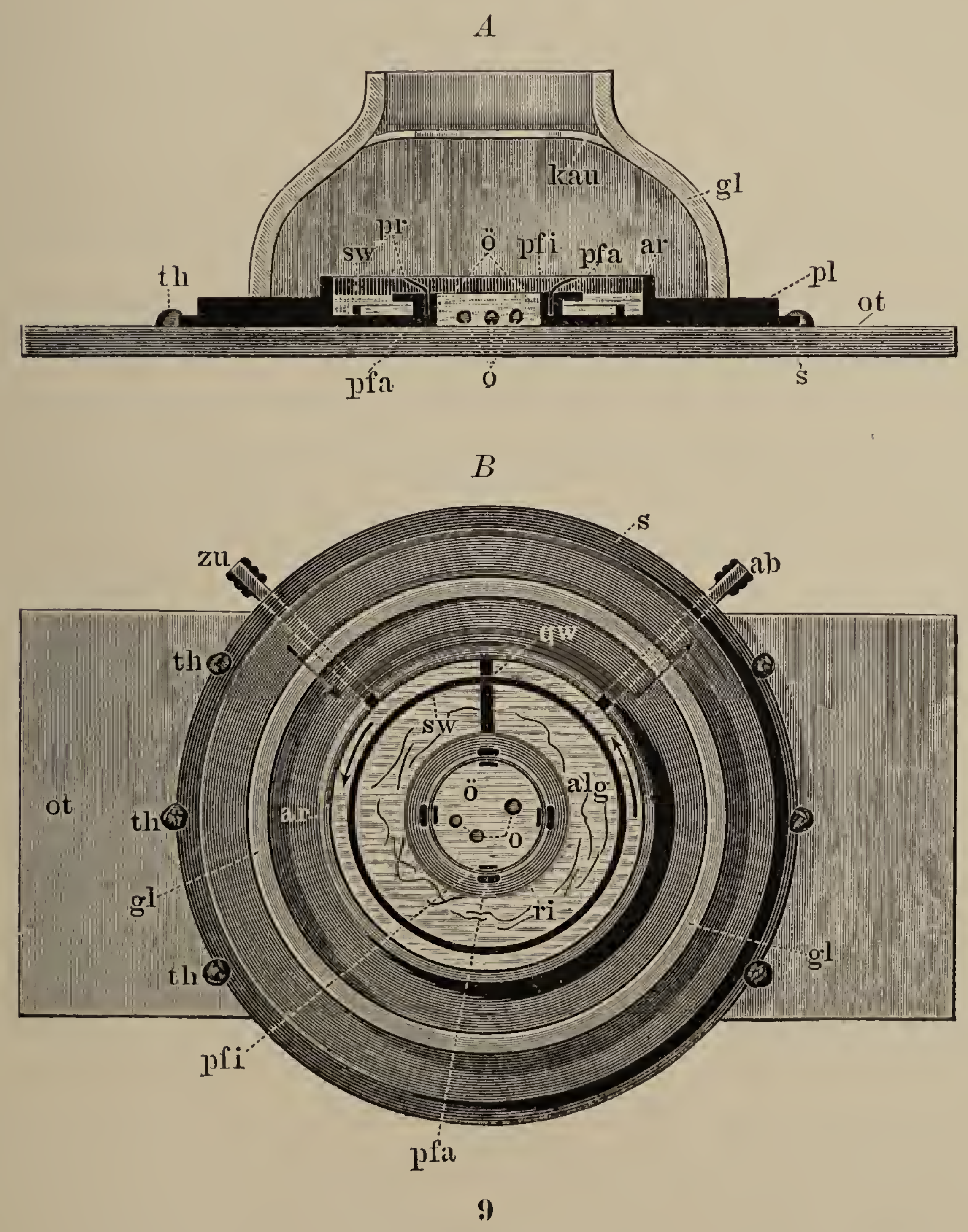
oder nöthigenfalls auch je drei. Die nicht gebrauchten Löcher werden entweder mit etwas Klebwachs zugestopft oder von den Bestandtheilen der Zelle selbst, die man auf sie legt, verschlossen. — An dem Circulationskästchen können die verschiedensten Arten von Zellen angebracht werden. In A und B ist die auf Seite 246 (Figur 6) beschriebene combinirte Zelle zur Untersuchung im hangenden Tropfen aufgelegt. Hier functioniren blos die Löcher 1 b und 1 c; 2 b, 3 b und 2 c, 3 c sind durch den auf sie gelegten inneren Ring *i* verschlossen. In C ist das Loch 1 c ganz, die Löcher 2 b und 3 b halb verschlossen durch die angedeutete Lage des Doppelringes *dr*, welcher zum Ausspannen von Membranen in der feuchten Kammer dient (s. weiter unten). In D, wo die Anordnung des doppelten Ricinusölrahmens mit dem zu untersuchenden Tropfen *tr* vor dem Auflegen des Deckglases dargestellt ist, sind blos die Löcher 1 b und 1 c ausser Function, mit Klebwachs verstopft. Solche Pfropfe entfernt man wieder sehr leicht, da man den ganzen Apparat auseinander nehmen kann. — Hat man gute Glasschneide- und Bohr-Instrumente, so kann man wohl die ganze Einrichtung selbst verfertigen. (Meine Apparate hat der hiesige Universitätsmechaniker F. Lutze gemacht.)

Wo eine **raschere Circulation** nothwendig ist, muss die Zu- und Ableitung durch feine Röhren gehen, welche direct in die Zelle, deren Seitenwand an entgegengesetzten Punkten durchbohrt ist, münden. In gewissen Fällen kann zu diesem Zwecke mit einer kleinen Modification auch jene Einrichtung der Ranvier'schen Zelle dienen, welche sonst als Gaskammer gute Dienste leistet. Die Zu- und Ableitungsrohre, welche in dem Objectträger selbst verlaufen, also nicht ungelegen sind, wie bei gewissen anderen Einrichtungen, müssen indessen hier etwas enger sein oder wenigstens enger münden als für das Durchströmen von Gasen. Damit nun das Object, vom Strome berührt, keine passiven Bewegungen mache, die der Untersuchung hinderlich sind, oder gar aus dem Gesichtsfelde geschwemmt werde, muss die Stromrichtung abgelenkt und der Strom selbst in möglichst feine Stromäste zerlegt werden. Deshalb fülle ich die ringförmige Rinne, die den centralen Glaspfeiler umgiebt, besonders vor der Zustrommündung dicht mit feiner Wolle, und damit jede Gefahr, dass sich das Object aus der Zone über dem Pfeiler entfernt, ausgeschlossen sei, umzäume ich den Pfeiler mit einem Wall aus gehärtetem Filtrirpapier, indem ich einen Streifen, welcher genau bis an das Deckglas reichen muss, rings herum an die Seitenfläche des Pfeilers klebe und den etwa herausragenden Theil im Niveau der oberen Objectträgerfläche mit einem scharfen Rasirmesser abtrage.

Die auf Seite 243 erwähnte feuchte Kammer mit doppeltem Ring für Untersuchung ohne Deckglas kann auch sehr gut für eine raschere Circulation eingerichtet werden, indem man am äusseren Ring

zwei Oeffnungen für die Zu- und Abflussröhre macht und die Wand des inneren Ringes zum Theil aus gehärtetem Filtrirpapier verfertigt.

Die von mir besonders bei Untersuchungen über die Entwickelung der Hirudineen benutzte und sehr bequem gefundene **Circulationskammer** ist in Figur 9 schematisch dargestellt. Sie ist berechnet für Beobachtungen mit



9

Circulationskammer (schematisch natürliche Grösse) A verticaler Durchschnitt, B Ansicht von oben. *ot* Objectträger, *gl* Glasglocke mit Kautschukring *kau*, *th* Tropfen von Terpentinharz, *ö* mittlere Oeffnung (Untersuchungsraum). *o* das Object, *alg* Algenfäden, *zu* Zuleitung, *ab* Ableitung, *s* niedriger Saum der Scheibe (Aluminiumplatte *pl*), *ar* äusserer Ring, *sw* Sicherheitswall, *qw* Querwand als Stromablenker, *pfi* innerer, *pfa* äusserer Pfeiler, *pr* Papierring, *ri* Ringlatte aus Aluminium. Die schwarzen oder am dunkelsten schraffirten Bestandtheile sind aus Aluminium.

dem apochromatischen Objectiv 16 mm, welches einen reellen Arbeitsabstand von circa 5 mm besitzt und mit Compensations-Ocular 18 dennoch eine beinahe 300fache Vergrösserung gestattet, die bei ähnlichen Untersuchungen mehr als

genug ist, weil man damit wegen der geringen optischen Differenzirung des lebenden Objectes meist gar nicht mehr als mit 150-200fachen sieht.

Der wesentlichste Bestandtheil des Aparates ist aus einem Scheibenförmigen Stück Aluminium *pl* von 5 mm Dicke und 6 cm Durchmesser gedreht, und ist einem Spiegelglasobjectträger von 3 mm Dicke, 9 cm Länge und 4 cm Breite sehr genau aufgeschliffen, so dass sie vermittelst einer capillaren Ricinusölschichte vollkommen wasserdicht darauf haftet. Ein etwa 2 mm breiter, dünner Saum *s* an der Scheibe erleichtert ihre Befestigung auf dem Objectträger durch einige Tropfen von Terpentinharz *th*. In der Mitte der Scheibe befindet sich eine runde Oeffnung von 1 cm Durchmesser. Am Rande derselben stehen vier Pfeiler von 2½ mm Höhe *pfi*; hinter diesen stehen in geringer Entfernung, so dass gerade ein röhrenförmig zusammengebogener Streifen gehärteten Filtrirpapiers zur Bildung der eigentlichen Seitenwand der inneren Zelle, wo sich das Object befindet, zwischen ihnen hineingesteckt werden kann, vier äussere Pfeiler *pfa*. Die äusseren Pfeiler, von derselben Höhe wie die inneren, tragen einen 2 mm breiten, dünnen platten Ring von 12 mm innerer Oeffnung, welcher so eine horizontale Stütze für das eventuell aufzulegende Deckglas bildet, dem Hineinstecken der Papierwand zwischen die Pfeiler aber nicht hinderlich ist. (Diese Einrichtung kann also auch für Untersuchungen im hangenden Tropfen, etwa bei stärkerer Durchlüftung — s. weiter unten — benutzt werden.) Einen Centimeter weit von der Wand der inneren Zelle befindet sich die Wand der äusseren Zelle, ein 5 mm hoher, etwa 1 mm dicker Ring *ar*. Innerhalb dieses Ringes steht noch, etwa 2 mm weit davon, ein dritter, 2 mm hoher, schwächerer Ring *sw*, welcher als Sicherheitswall (damit beim zufälligen Aufhören der Circulation das Object *o* nicht trocken bleibt) und zum ersten Ablenken des Zustromes dient. Die Mündung sowohl der Zuleitung *zu*, als auch der Ableitung *ab* (zwischen welchen in der Mitte eine den Strom ablenkende Querwand *qw* [in B] von der Höhe der Pfeiler angebracht ist) ist in dem äusseren Ring *ar* nicht seitlich, sondern mehr nach vorn angebracht, da die Leitungsröhren in dieser Richtung schräg nach vorne beim Beobachten weniger hinderlich sind. Sie verlaufen innerhalb der Scheibe *pl*, welche zu diesem Zweck in horizontaler Richtung entsprechend durchbohrt ist. Der oberen Fläche der Aluminiumscheibe ist der untere Rand einer nach oben zum Hineinstecken des Objectivs gerade weit genug offenen kleinen Glasglocke aufgeschliffen, welche, mit etwas Ricinusöl bestrichen, zwar einen luftdichten Verschluss der Kammer bildet, und so das Präparat vor Staub und Verdunstung, wie die Recklinghausen'sche Kammer, schützt, aber auch für die Einstellung bis an den Rand der inneren Zelle eine genügende glatte Verschiebung des Objectträgers zulässt. Ihr unterer Rand ist nämlich bei Einstellung auf die Mitte der inneren Zelle sowohl vom äusseren Ring *ar*, als auch von der oberen Kante der Scheibe 5 mm weit entfernt, und grössere Excursionen als höchstens 5 mm in jeder Richtung von der Mitte aus erfordert ein Untersuchungsfeld von 1 cm Durchmesser nicht. Vor der Halsverengung der Glocke ist ein platter Kautschukring *kau* aufgeklebt, welcher in das Lumen hineinragt und so das Einschieben und Ausziehen des Mikroskoprohres (der Objectivfassung) zwar nicht hindert, aber durch Anschmiegen an dasselbe doch einen hinreichenden Verschluss auch in

dieser Richtung bewirkt. — In den Raum zwischen der papierenen inneren Zellenwand und dem Sicherheitswall *sw* kann man Fadenalgen legen, welche bei einem constanten Wasserniveau von 3 mm in der Zelle vom Strom nicht in den Untersuchungsraum getragen werden, wenn der Papierring etwa 5 mm hoch und oben trichterförmig nach aussen gebogen ist. — Das Wasser führe ich durch eine aus Kautschuk und Glasröhren zusammengestellte Leitung aus einem grösseren Gefäss mit nur wenig über dem Objecttisch erhöhten constantem Wasserniveau zu, das unter der Wasserleitung auf meinem Arbeitstisch steht. Der Abfluss geschieht durch eine ähnliche Leitung direct in den Ausguss der Wasserleitung.

§ 25.

Erhalten der Lebensbedingungen des Objectes während der Untersuchung: Zufuhr von Luft. Gaskammer.

Vielleicht von noch grösserer Wichtigkeit als die Erneuerung des Untersuchungsmediums ist bei länger dauernder Beobachtung **die Zufuhr von frischer Luft in die Zelle**, besonders wenn es sich um frei lebende thierische Organismen handelt. Sobald sie vom Luftmangel zu leiden beginnen, versammeln sich kleinere Organismen an solchen Stellen der Zelle, wo diese mit der äusseren Luft irgendwie communicirt, also z. B. wenn das Deckglas mit keinem Verschlussmittel umrandet ist, an seinen Rändern, wo sie der Untersuchung, namentlich mit stärkeren Vergrösserungen oft unzugänglich werden[1]. Finden sie in einer gut verschlossenen Zelle keine solche Stellen, so hören ihre Bewegungen allmählich auf, und ihre feinere Structur erleidet bald starke Veränderungen, bis sie schliesslich ganz zu Grunde gehen.

Besondere Apparate erfordert indessen die Versorgung der Zelle mit frischer Luft nicht. Einmal kann, wenn eine Circulation in ihr stattfindet, das zuströmende Wasser selbst die frische Luft mitbringen und das wegströmende die Ausathmungs- und die sonstigen schädlichen Stoffwechselproducte mitnehmen. Bei einer raschen Circulation reisst der Strom immer auch genug Luft mit sich, und auch wo eine langsamere Zuleitung durch Dochte oder Leinwandstreifen stattfindet (wie bei der Einrichtung von J. af Klercker auf p. 250), die eine Strecke lang frei an der Luft verlaufen, nimmt das Wasser unterwegs die nothwendige Luftmenge auf. Wo die Leitung vom Reservoirgefäss

---

[1]) Diesen Umstand kann man indessen gelegentlich gut dazu benützen, kleinere Organismen (Infusorien, Rotatorien etc.) an bestimmten Punkten in grösserer Anzahl zu versammeln. Man verfertigt den Rahmen einer Zelle ganz aus Ricinusöl bis auf eine kleine Strecke der Mitte der einen Seitenwand, wo der Rahmen durch ein Stück nass eingelegten Löschpapierstreifens von passender Dicke vervollständigt wird.

her, welches trotz geringen Inhaltes doch für längere Zeit genügen soll, von der Luft verschlossen ist, muss man entweder von Zeit zu Zeit frische Luft in das Reservoir hineinpumpen, oder sie mit daselbst producirtem Oxygen auffrischen. Zum Hineinpumpen von Luft reicht zur Noth auch eine kleine Pipette mit enger Mündung hin; besser ist aber eine constante Luftleitung von einem besonderen Luftreservoir her. Eine solche Einrichtung ist an dem Apparat von RHUMBLER (p. 251) in der Weise hergestellt, dass Luft aus einem Kochkolben durch hineinfliessendes Wasser herausgetrieben und in einer fein ausgezogenen U-Röhre an den Boden des als Reservoir dienenden Reagensglases am Objecttisch geleitet wird, wo sie perlend an die Oberfläche steigt und so das Wasser sättigt. Das Produciren von Oxygen im Reservoirgefäss überlässt man lebensfrischen Pflanzen. So lege ich eine Anzahl schön grüner Fadenalgen und etwas vom grünlichbraunen, aus Diatomaceen und dergl. bestehenden Bodensatz oder Wandbelag meiner Aquarien in die Reservoirbüchse meines Circulationskästchens (p. 251-254), nur so viel indessen, als in dem engen Raum längere Zeit gut gedeihen könnten, und setze ihnen auch einige kleine Krebse oder andere thierische Organismen, jedoch nur ganz wenig, zu.

Aber auch in der geschlossenen Zelle ohne Circulation sind pflanzliche Organismen ausgezeichnet dazu geeignet, einen gesunden Gasaustausch mit den zu beobachtenden thierischen Organismen zu unterhalten. Sie entfernen die Stoffwechselproducte der letzteren aus dem Untersuchungsmedium, indem sie sie absorbiren und es dafür mit ausgeathmetem Oxygen erfrischen. So entsteht eine Art friedliche Symbiose, welcher beide Theile ein gutes Gedeihen für längere Zeit (bis Wochen, ja Monate) verdanken. Die Pflanzen sind in der Zelle so anzubringen, dass sie weder das Beobachtungsfeld beschränken, noch im Wege des durchfallenden Lichtes stehen und so das Eingestellte beschatten. Während sie also in einer seichten Zelle, wo z. B. Fadenalgen (Conferven und dergl.) gleichzeitig auch zum Stützen des Deckglases dienen, zwischen den Untersuchungsobjecten, z. B. Protozoen, zerstreut liegen können, müssen sie sich in tieferen Zellen, also z. B. in feuchten Kammern im engeren Sinn, vom Untersuchungsraum getrennt, seitlich von diesem befinden: in der RANVIER'schen Zelle in der Ringfurche, in der combinirten feuchten Kammer für hangenden Tropfen (p. 246), zwischen äusserem und innerem Ring, ebenso in der für Beobachtung ohne Deckglas auf p. 243 und 255-256 beschriebenen Einrichtung. Hier ist noch dazu eine directe Vermengung des Wassers, wo sich das Untersuchungsmaterial und wo sich die Pflanzen befinden,

ohne Nachtheile für die Beobachtung möglich, da ja der innere Ring ganz oder zum Theil aus einem Streifen gehärteten Filtrirpapiers bestehen kann.

Eine besondere Zuleitung von verschiedenen Gasen, wozu die **Gaskammern** dienen, hat für rein morphologische Untersuchungen während des Lebens keine Bedeutung, wohl aber zum Verfolgen der Einwirkung gasförmiger Fixirungsmittel auf das lebensfrische Object. Damit wir also im V. Abschnitt nicht noch einmal auf diese Einrichtungen zurückkommen müssen, wollen wir sie hier kurz besprechen. Sollen sich die Dämpfe, deren Wirkung man mit dem Mikroskop direct zu controliren hat, in der Kammer selbst aus Flüssigkeiten entwickeln (so Osmiumtetraoxyd-, Essigsäure-, Ammoniakdämpfe und dergl.), so ist dazu eine jede feuchte Kammer im engeren Sinne gut, in welcher ein gesonderter Raum für diese Flüssigkeit vorhanden ist, damit sie selbst nicht mit dem Beobachtungsmedium, oder, falls die Beobachtung in Luft geschieht, mit dem Object in Berührung komme. Sehr geeignet ist demnach die Doppelkammer für den hangenden Tropfen (p. 246) mit oder ohne Circulationskästchen (Figur 8 *A* und *B*) und gelegentlich auch die Einrichtung für Untersuchung ohne Deckglas (p. 243). Sollen die Gase als solche in die Kammer dringen und sie durchströmen, so können die ebenfalls schon beschriebenen Einrichtungen benützt werden, welche zur Unterhaltung einer raschen Circulation dienten, so die Ranvier'sche Gaskammer und die Circulationskammer (p. 255-256), nur dass hier der innere Wall ganz aus Aluminium oder Glas sein muss. Ein solcher Ring kann, falls er dem Boden der Circulationskammer ausserhalb des Pfeilers *pfa*, oder dem Objectträger selbst innerhalb der centralen Oeffnung *ö* in Figur 9 *A* und *B* gut aufgeschliffen ist, nach Bedarf immer leicht eingesetzt werden. Natürlich kann diese Kammer ebenso gut bei Untersuchungen im hangenden Tropfen auch als Gaskammer gebraucht werden.

Die von Stricker ([2] p. VII) für den hangenden Tropfen vorgeschlagene feuchte Kammer, deren Seitenwand ein nach Bedürfniss dicker Ring aus Glaserkitt (s. p. 235) auf dem Objectträger ist, kann man nach ihm einfach in der folgenden Weise zu einer Gaskammer umgestalten. In den noch weichen Wall von Kitt „kann man nämlich entsprechend der Mittellinie des Objectträgers je ein Glasröhrchen einlegen, an jedes derselben ein Kautschukröhrchen bringen und diese, wenn kein Gas durchgeleitet werden soll, durch leichte Quetschhähne verschliessen.“ Das mit dem hangenden Tropfen auf den weichen Kitt gedrückte Deckgläschen verschliesst die Kammer

ganz hermetisch. Wenn man eine solche Gaskammer abwechselnd z. B. mit Kohlensäure und atmosphärischer Luft während der Beobachtung füllen will, so schaltet man in die Leitung, welche Kohlensäure aus einer Waschflasche am Arbeitstisch in die Kammer führt, eine T-Röhre ein und verbindet ihren senkrechten Schenkel mit einer Kautschukröhre, deren anderes Ende der Beobachter im Munde halten kann und während der Strömung von Kohlensäure, damit diese ihre Richtung durch die Kammer nehme, zusammenpresst. Wenn er nun die Leitung zwischen Waschflasche und T-Röhre (z. B. ein Kautschukrohr mit einem Quetschhahn) schliesst und am Rohre im Munde saugt, dann zieht er von der entgegengesetzten Seite der Kammer, wo das Leitungsrohr offen ist, atmosphärische Luft hinein. (STRICKER [2] VIII.)

Complicirtere Gaskammern sind die von STRICKER ([2] p. IX) mit Quecksilberverschluss nach dem von KÜHNE eingeführten Princip, und die, ebenfalls von STRICKER, mit elektrischer Heizung (p. XIII), die von ROLLETT mit Gaswechsler u. a. m. Ihre Schilderung wollen wir unterlassen, da sie von verschiedenen Instrumentenhändlern fertig zu beziehen sind und seit langer Zeit allgemein gebraucht werden.

§ 26.

Erhalten einer constanten Temperatur unter dem Mikroskop.

Ueber diesen Gegenstand müssen wir uns ganz kurz fassen. Die Erhaltung des Untersuchungsobjectes auf einer constanten Temperatur ist nothwendig bei der Beobachtung während des Lebens, wenn das Object einem warmblütigen (homoiothermen) Wesen (Säugethier oder Vogel) entnommen ist. Es werden dazu heizbare Objecttische, Objectträger für durchströmendes warmes Wasser und Thermostate benützt, in welche das ganze Mikroskop hineingestellt wird. Eine vollkommene Sicherheit, dass Temperaturschwankungen über 1-2 Grade, die das Gedeihen des Objectes schädlich beeinflussen würden, auch dann nicht eintreten, wenn die ganze Einrichtung längere Zeit sich selbst überlassen bleibt, gewähren nur die Thermostate, deren Anwendung für diesen Zweck zuerst von SACHS und PANUM vorgeschlagen wurde. Diese machen leider die Untersuchung selbst etwas unbequem, am wenigsten noch die PFEIFFER'sche Heizvorrichtung, welche von der Firma C. ZEISS (Jena) zu beziehen ist. Wenn man indessen das Präparat während der ganzen Untersuchung ununterbrochen vor Augen haben kann, so genügen auch die neueren heizbaren Objectträger, gelegentlich sogar die älteren heizbaren Objecttische.

Die Heizung geschieht blos bei den älteren Vorrichtungen direct durch eine Gas- oder Spiritusflamme, welche einen oder zwei Fortsätze des kupfernen

Objecttisches (heizbarer Objecttisch von M. SCHULTZE) erwärmen. STRICKER ([2] p. XIV) liess in derselben Weise den zum Theil aus Kupfer zusammengestellten Objectträger selbst, welcher auch das Thermometer trägt, erwärmen, da es ja auf die Temperatur des Objectträgers und nicht des Objecttisches, welche eine andere sein kann, ankommt. Auch wandte STRICKER die Heizung durch einen constanten elektrischen Strom, welcher den Objectträger durchsetzt, anstatt der Flamme an. Viel besser hat sich indessen das Erwärmen des Objectträgers durch warmes Wasser, welches ihn durchströmt, bewährt.

Bei den einfacheren Vorrichtungen dieser Art kommt die Zelle, worin sich das Object befindet, oben stets mit nicht erwärmter Luft in Berührung, welche ebenso wie das kalte Mikroskoprohr, Wärme entzieht und so grössere Schwankungen der Temperatur auch innerhalb der Zelle verursacht. Muss man sich aber doch mit solchen Vorrichtungen behelfen, so thut man gut, wenn man das Präparat wenigstens unter der auf Seite 256 (*gl* in Figur 9) erwähnten kleinen Glasglocke (das untere Ende eines Lampencylinders nach RECKLINGHAUSEN) untersucht, wo wenigstens die bereits erwärmte Luftschichte über der Zelle nicht immer wieder wegströmen kann. Ein mit dieser (bereits von M. SCHULTZE [8] p. 4 empfohlenen) Vorsichtsmassregel für ununterbrochene Beobachtungen sehr empfehlenswerther Apparat ist der heizbare Objecttisch nach L. PFEIFFER (construirt von E. LEYBOLD's Nachf., zu beziehen auch durch C. ZEISS). Dieser, ein von warmem Wasser durchströmter Glaskasten mit Thermometer, dient selbst als Objectträger und kann mit Ausschliffen an der oberen Glasfläche, am besten im Sinne der RANVIER-schen Zelle, versehen werden, wo das Deckglas direct aufgelegt wird. In einem der Ausschliffe (man lasse drei anbringen) sei der centrale Pfeiler für Beobachtungen im hangenden Tropfen entsprechend niedriger als in den anderen.

Noch besser aber sind jene Objectträger für Durchströmung von warmem Wasser, welche die Zelle allseitig erwärmen. Es sind Kästchen mit doppelter Wand und doppeltem Glasboden, auf welchem der eigentliche Objectträger mit der Untersuchungs-Zelle liegt, durch eine seitliche horizontale Spalte hineingeschoben. Die dickere obere Wand ist mit einer runden Oeffnung zum Hineinstecken des Objectivs versehen. Das grössere Wassergefäss, von wo das warme Wasser in das Kästchen hineinströmt und wohin es wieder zurückströmt, sei mit einem Thermoregulator für den erwärmenden Gas-Mikrobrenner versehen. Beim Füllen des Kästchens achte man darauf, dass keine Luftblasen, die unter das Präparat kommen und eine richtige Beleuchtung unmöglich machen könnten, darin bleiben. Auch ist die Circulation des warmen Wassers bereits einige Stunden vor dem Einstellen des Präparates in Gang zu setzen, damit erst der ganze Apparat sammt dem Mikroskoprohr eine gleichmässige, genau regulirte Temperatur annehme. Sehr empfehlenswerth in dieser Art ist der RANVIER'sche Wasserheizapparat).

Mit den Methoden, nach welchen die Wirkungen von raschem Temperaturwechsel und von elektrischen Strömen oder Schlägen auf das lebende Object unter dem Mikroskop verfolgt werden können, wollen wir uns im folgenden Paragraphen beschäftigen.

§ 27.

Mittel zum Erhöhen der Erkennbarkeit von Structurverhältnissen des lebenden Objectes: Hemmung der Bewegungen. Mechanischer Druck.

Wer seinen Gegenstand blos in einer Lage, in unverändertem Bewegungszustand und bei derselben Beleuchtung, wenn auch mit dem besten Mikroskop und den stärksten anwendbaren Vergrösserungen, noch so lange unter in idealer Weise erhaltenen natürlichen Verhältnissen beobachten würde, der könnte bei weitem nicht alles erkennen, worüber die Untersuchung während des Lebens Aufklärung zu bieten vermag. Manches, was wir anfangs nicht sehen konnten, fällt uns bei veränderter Lage des Objectes, bei künstlich oder auf natürlichem Wege verlangsamter oder beschleunigter Bewegung, oder bei einer anderen Beleuchtung sofort auf: bald wird in dieser Weise unsere anfängliche Meinung über bereits gesehene Dinge bestätigt, bald aber wesentlich verändert. Die Methoden, durch welche wir solche Veränderungen der Bewegung, der Lage, der Form und der Beleuchtung hervorrufen, sind die einzigen Mittel, welche unseren Einblick in die Beschaffenheit des lebenden Objectes dann vertiefen können, wenn der Organismus nicht aufhören soll, weiter zu leben.

Schon die natürlichen, unbeeinflussten Bewegungen des Gegenstandes lassen uns manche Structurverhältnisse erkennen, die bei seiner Bewegungslosigkeit unserem Blicke entgehen würden[1]. Oft sind aber die Bewegungen so rasch, dass dadurch die Structurelemente ihren Ort zu schnell verändern, um wahrgenommen oder richtig beurtheilt werden zu können. Wir müssen also zunächst die **Methoden** aufzählen **zum Verlangsamen oder** auch zeitweiligen **Aufheben der Bewegungen.**

---

[1]) Die feinen Geisseln mancher Protozoen (oder einzelliger Pflanzen) würde man gar nicht bemerken, wenn man die Wirkung ihrer Bewegungen an der unmittelbaren Umgebung (Herumtanzen und Fortschleudern von kleinen, suspendirten Gegenständen) und in den Bewegungen des Objectes selbst nicht sähe. Gewisse Zellengruppen im Körper von durchsichtigen Würmern erkennt man nur dann als Blut- oder Lymphzellen, wenn sie bei stärkeren Contractionen des Thieres in die Blutcirculation mitgerissen werden. Von den Zwischenscheiben der quergestreiften Muskelfasern sieht man erst bei den Contractionen der Muskelfasern, wenn dabei die Querreihen von doppelbrechenden Abschnitten der Muskelsäulchen in Unordnung gerathen, dass die ersteren keine ausgespannten, festen Membranen nach der alten Auffassung von KRAUSE sein können, da sich die Querscheiben (die früheren Fleischprismen, die BOWMAN'schen Sarcous elements) über mehrere scheinbare Membranen hinwegbewegen.

Vor allem soll man jedoch versuchen, abzuwarten, bis die Bewegungen, etwa in Folge der **Ermüdung des Thieres**, von selbst aufhören oder wenigstens nachlassen[1]. Viel trägt dazu bei, wie auf Seite 257 erwähnt, der allmählich eintretende Luftmangel in einer ganz geschlossenen Zelle, wo für eine Sauerstoffzufuhr auch anderswie nicht gesorgt ist. Natürlich muss man in diesem Fall bei seinen Beobachtungen sehr kritisch sein, um nicht Erscheinungen des Absterbens oder des Todes, welche übrigens, wie wir sehen werden, auch wichtige Schlüsse auf lebende Structuren zulassen, für die des Lebens zu halten. In dieser Voraussetzung kann man den **Luftmangel** direct **als Untersuchungsmittel** verwerthen. Damit er rascher eintritt, baut man die Zelle so eng, als es ohne mechanische Hemmung der Bewegungen des Objectes nur möglich ist. Besonders zu empfehlen ist hier für allerlei Objecte, die keine zu grosse Muskelkraft bei ihren Bewegungen entfalten, die Ricinusölzelle. Gut ist sie z. B. noch für Amphistomum aus dem Froschdarm, aber schon unbrauchbar für junge Clepsine, Nephelis und andere Hirudineen von derselben Grösse; am besten für allerlei Protozoen, Rotatorien und dergl. Die meisten Structuren der letzteren, in erster Linie die Cilien, sind sogar nach den besten Fixirungen, die uns für diese Organismen bekannt sind, viel weniger deutlich, als bei der allmählichen Verlangsamung der Bewegungen, wo diese von Zeit zu Zeit auch ganz stillstehen, um dann wieder zu beginnen.

Kein anderes **Betäubungsmittel** kann sich für unseren gegenwärtigen Zweck mit dem Luftmangel messen.

Deshalb ist der Vorschlag Fol's ([4] p. 699 und [2] p. 9), das Untersuchungsmedium bei vollkommenem Abschluss der atmosphärischen Luft mit **Kohlensäure** zu sättigen, sehr rationell. Er hat damit besonders bei Coelenteraten und Echinodermen gute Resultate erzielt. „Seesterne blieben im kohlensauren Seewasser vier Tage lang unbeweglich liegen, wurden aber nach halbstündigem Verweilen in frischem Seewasser gerade so munter und gesund, als wäre gar nichts vorgefallen“. Besonders munter sind diese Thiere indessen nie; überhaupt führt diese Methode der Betäubung bei auch sonst trägen, weniger contractilen Thieren am ehesten zum Ziel. In der

---

[1]) Der Anfänger wird die Schnelligkeit der mit dem Mikroskop beobachteten Bewegungen leicht ausserordentlich überschätzen, da er nicht bedenkt, dass auch der von den einzelnen bewegten Theilen zurückgelegte Weg vergrössert erscheint, dass also der Weg, welcher z. B. bei einer 500 fachen Vergrösserung etwa die Hälfte des Gesichtsfeldes (apochrom. Objectiv 3 und Compensationsocular 6 mit Mikrotheilung) scheinbar etwa 70 mm, ausmacht und in einer Secunde zurückgelegt wird, in der That 500 mal kleiner ist (0·15 mm), also erst in zwei Stunden ein Meter wäre (1·08 m).

Praxis versagt sie sehr oft. Für Fische, Mollusken und zum Theil auch Krustenthiere ist sie selbst nach Fol nicht geeignet. Leider sind es die übrigen gebräuchlichen Methoden der Betäubung, wenn diese nicht tödtlich werden soll, noch weniger, denn entweder führen sie überhaupt keine Betäubung herbei, oder aber mit der Betäubung sehr bald auch den Tod. Die Fol'sche Methode führe ich unter dem Mikroskop in der Weise aus, dass ich das Reservoirgefäss von einer der im vorhergehenden Paragraphen beschriebenen Circulationseinrichtungen, bei welcher die Zuleitung von der Luft abgeschlossen geschieht, allmählich mit gut abgekochtem Wasser, in welches Kohlensäure hineingeleitet wurde, fülle. Sobald das anfänglich normale Untersuchungsmedium vom Kohlensäure-Wasser ganz ersetzt ist, kann die Circulation aufhören; manchmal ist es dagegen besser, wenn sie während der ganzen Zeit, wo das Object unbewegt bleiben soll, fortdauert. In dieser Weise habe ich, besonders bei Hirudineen, wiederholt (nicht immer) sehr gute Resultate bekommen.

Von den übrigen Mitteln ist auch hier das **Cocaïn** das beste. Im Reservoir der Circulationseinrichtung (jede der geschilderten ist hierfür gut) wird das Untersuchungsmedium allmählich durch eine 1procentige Cocaïnlösung (mit dem Untersuchungsmedium selbst, also bei Seethieren mit Seewasser verfertigt) ersetzt, die Circulation jedoch, sobald die erwünschte Verlangsamung der Bewegungen eingetreten ist, unterbrochen und das Reservoirgefäss zur weiteren, sofort einzuleitenden Circulation wieder mit dem reinen Untersuchungsmedium gefüllt. Wird das Object von neuem zu lebhaft, so wiederholt man die Zufuhr von Cocaïnlösung.

In dieser Weise angewandt, scheint mir auch **Formol** brauchbar zu sein. Meine Versuche sind noch nicht zahlreich genug, um es direct empfehlen zu können. Endlich können auch Temperaturen über und unter der normalen, welche jedoch noch nicht den Grad erreichen, wo die eigentliche Wärme- oder Kältestarre eintritt, zum Verlangsamen der Bewegungen des Objectes versucht werden. Rascher Temperaturwechsel und elektrische Ströme oder Schläge können zwar auch einen zeitweiligen Stillstand der Bewegungen verursachen, sie gehören jedoch als Reize mehr zu den Mitteln zum Hervorrufen von Bewegungen.

Nur selten zu empfehlen ist die **mechanische Hemmung der Bewegungen** durch eine solche Verringerung der Dimensionen der Zelle, dass dadurch ein gewisser, noch nicht schädlicher Druck auf den Körper ausgeübt werde. In dieser Weise kann sich das Object aus dem Gesichtsfelde zwar nicht entfernen, es reagirt aber, sobald es etwas contractiler ist, durch solche krampfhafte Bewegungen gegen den Druck, dass die natürlichen Formen und meist auch die Lagerung der inneren Organe unerkennbar werden. Auch das **Zusetzen** von einer kleinen Menge eben noch flüssiger **Gelatinlösung** zum Untersuchungsmedium,

welches dadurch zu einer dünnen Gallerte erstarrt, oder das **Festhalten** von kleinen Thieren **durch Capillaradhäsion** auf dem Boden der Zelle oder auf der unteren Fläche des Deckglases, wobei sie sich blos zum Theil in der Flüssigkeit befinden, ist aus demselben Grunde und weil dadurch zu ungünstige Verhältnisse für das Leben des Objectes, bei der letzteren Methode auch in optischer Hinsicht für die Untersuchung (sehr unregelmässige, unebene Grenzflächen) geschaffen werden, nicht anzurathen.

Ganz anders verhält es sich mit der **Beschränkung der Bewegungen** von noch kleineren Organismen **auf einen geringen Raum,** in welchem sie sich zwar frei bewegen können, aber, falls sie sich dem Gesichtsfelde auch entreissen, doch leicht wieder aufzufinden sind. Eine sehr gute alte Methode dazu ist die, welche C. Gerstenberger ([1] p. 45) das Anlegen von Infusorien-Teichen nannte und die wir p. 232 bereits erwähnten. Man legt auf den Wassertropfen, der die beweglichen Körper enthält, „ein Stückchen dünnes Zeug mit etwas groben Maschen, z. B. ganz feinen Tüll oder Spitzengrund, und darauf das Deckgläschen". Ich nehme eine passende Nummer der Dufour'schen Müllergaze (s. 212, Anm. 1) und lege ein viereckiges Stückchen davon, welches gerade den Raum innerhalb des inneren Ricinusölrahmens einnimmt, etwas befeuchtet auf den Objectträger, und dann den Tropfen darauf. Uebrigens genügt hier auch ein einfacher nachträglicher Oelverschluss, da die Fäden der Gaze gleichzeitig das Deckglas stützen (s. p. 232)[1].

---

[1]) Nummer 0000 der Dufour'schen Müllergaze hat Maschen, welche bei apochrom. Objectiv 16 und Compensationsocular 4 gerade in das Gesichtsfeld hineingehen. Sie bildet Kämmerchen, die sich auch in Betreff ihrer Höhe sehr gut für Stentor, Bursaria, grössere Rotatorien, verschiedene Krebse und deren Larven etc. eignen. Indessen kann Stentor neben den Kreuzungspunkten der Fäden gelegentlich schon von einem Kämmerchen in das andere durchschlüpfen. Das zurechtgeschnittene Stück Gaze lege man, wie gesagt, befeuchtet auf den Objectträger, dann presse man es mit satinirtem (keine Fäden zurücklassendem) Löschpapier fest und entferne letzteres erst unmittelbar vor dem Auflegen des Deckglases, an dessen Unterseite sich der Tropfen befindet. Sonst hebt sich das elastische Zeug, besonders an den Rändern in die Höhe und lässt das Deckglas nicht ganz horizontal aufliegen, und das Wasser verbreitet sich ungleichmässig, manche Maschen werden mit Luft gefüllt. Man kann das zu benutzende Zeug vor dem Auflegen auch mit weichem Paraffin (event. auch Ricinusöl) imprägniren und es beim Auflegen stark auf den Objectträger pressen (z. B. mit einer Glasplatte oder einem Glasstäbchen), wodurch die Lücken, die von einem Maschenraum in den anderen führen, mit Paraffin verstopft werden. Ein vollkommenes

Man füllt nicht den ganzen Raum unter dem Deckglase mit Wasser, sondern lässt das Oel von den Rändern eindringen, das Wasser gegen die Mitte des Präparates verdrängen und so eine 2-3 mm breite Randzone bilden, welche einen vollkommenen Verschluss liefert, ohne an den Rändern des Deckglases hervorzutreten, was eventuell ein Beschmutzen der stärkeren Objective verursachen könnte. Für dünne, sehr contractile und schmiegsame Thiere genügen die durch Gaze-Einlage hergestellten c a b i n e t s s é p a r é s nicht, denn sogar bei dem feinsten Zeug finden sie an den Kreuzungsstellen der Fäden Durchgang von einer Zelle in die andere. In diesem Falle zeichne ich mir mit Ricinusöl und einem spitzen Pinsel sich rechtwinkelig kreuzende Linien von passender Dicke und Entfernung auf den Objectträger und umgebe das so hergestellte Gitterwerk mit einem höheren Wall von Oel. Den Tropfen lege ich auf die Unterseite des Deckglases. Wenn nun letzteres vorsichtig, ganz horizontal aufgelegt wird, so entsteht eine Anzahl regelmässig gebauter und geordneter secundärer Zellen innerhalb der durch den äusseren Oelrahmen gut verschlossenen grossen Zelle, in welchen die Objecte voneinander getrennt, immer wieder leicht zu finden sind, da man sich die Zelle, wo sich das gerade interessirende Object befindet (z. B. dritte Zelle der zweiten Reihe von oben links), leicht notiren und immer wieder einstellen kann. Die verschiedensten frei lebenden Infusorien (Stentor, Bursaria, Spirostomum, Paramaecium etc.), Rotatorien, Krebse und dergl. lebten in diesen secundären Zellen über 24 Stunden lang, viele Infusorien, sogar ohne in Gesellschaft von einzelligen Algen zu sein, Tage lang[1].

Wenn auch die Bemühungen des Objectes, sich von einem Drucke zu befreien, seine natürlichen Formen und die normale Topographie der inneren Organe entstellen, so gewährt doch diese Entstellung am leichtesten einen Einblick in die Consistenz, Elasticität oder Contractionsfähigkeit des Körpers, die Befestigung der inneren Organe etc. Deshalb ist **der Druck**, welcher noch nicht verletzt und genau zu reguliren ist, ein wichtiges Mittel der Untersuchung während des Lebens.

Manchmal geben schon die spontanen Form- und Lageveränderungen während der Bewegung, und so oft das Thier an einen festen Körper in der Zelle stösst oder sich zwischen solchen durchzuzwängen versucht, eine genügende Aufklärung in dieser Hinsicht.

Ein anderes Mal muss man schon das Gewicht des Deckglases wirken lassen, indem man die Stütze entfernt oder niedriger macht. Besonders gut ist letzteres auszuführen mit der **Ricinusölzelle**, welche, wie erwähnt, **als** das schonendste **Compressorium** benutzt werden

---

Absperren sämmtlicher Maschenräume von einander gelingt aber auch in dieser Weise nur in Ausnahmefällen.

[1]) Andere Methoden zum Herstellen von secundären Zellen sind bei Besprechung der Mittel zum Stützen des Deckglases und zum Bilden der Seitenwand von Zellen bereits erwähnt (p. 231-232).

kann. Ein in gerader Linie abgeschnittener Löschpapierstreifen von passender Grösse wird beiderseits an den Rand des Deckglases geschoben. In dem Maasse, als die Streifen das Oel unter dem Deckglase wegsaugen, wird sich das Untersuchungsmedium in der Mitte der Zelle ausbreiten, der Oelrahmen schmäler und niedriger, daher die Entfernung zwischen Deckglas und Objectträger geringer werden. Der in dieser Weise auf das Object ausgeübte Druck kann mit dem Mikroskop genau und ungestört beobachtet und durch Wegschieben der Streifen in jedem Augenblick unterbrochen werden. Der hermetische Verschluss bleibt dabei, so lange die Grenze des Untersuchungsmediums nicht bis an den Deckglasrand reicht, bestehen, und auch die früheren Raumverhältnisse können dadurch, dass man möglichst rasch hintereinander an allen vier Seiten einen neuen Oelstreifen zieht, welcher unter das Deckglas eindringt, oft ganz genau wieder hergestellt werden. Genügt das Gewicht des Deckglases noch nicht, so beschwere ich es mit viereckigen Glasrahmen, deren Gewicht ich kenne. Solche kann man mehrere aufeinanderlegen, ohne die Untersuchung mit den stärksten Vergrösserungen zu stören, wenn sich das Object in der Mitte oder wenigstens nicht sehr weit davon befindet. Der unterste Rahmen reiche nicht bis an den Deckglasrand, die oberen seien successive immer etwas weiter; indessen wird man wohl nur selten mehr als zwei oder drei brauchen[1].

Andere Einrichtungen zum Comprimiren gehören schon in das folgende Capitel.

§ 28.

Mittel zum Erhöhen der Erkennbarkeit von Structurverhältnissen des lebenden Objectes: Künstliches Hervorrufen von Bewegungen.

Bewegungen (Orts- oder Lageveränderungen, Contractionen, Strömungen etc.) künstlich hervorzurufen ist ebenso wichtig, wie solche verhindern zu können. Wir können active und passive Bewegungen des Untersuchungsobjectes unter dem Mikroskop veranlassen: erstere durch Reize, letztere durch Verschieben des Deckglases und durch Strömungen in der Zelle.

---

[1]) Wenn die Seitenwände der Zelle aus einer nicht flüssigen, aber weichen und plastischen Substanz bestehen (z. B. frischem Glaserkitt oder weichem Klebwachs), und man einen Druck auf das Object ausüben will, so soll man an einer Ecke des Rahmens eine Oeffnung lassen, damit die Flüssigkeit dort aus der Zelle heraustreten und durch ein hingelegtes Stückchen Filtrirpapier gleich fortgesogen werden kann.

Die **Reize**, welche wir hier erwähnen wollen, sind in erster Linie die elektrischen, dann ein rascher Temperaturwechsel und eine plötzliche starke Beleuchtung.

Für elektrische Reize sind die verschiedenen **elektrischen Objectträger** eingerichtet. Ein constanter oder unterbrochener elektrischer Strom, welcher durch ein mikroskopisches Präparat geleitet wird, ruft gleichzeitig elektrolytische Veränderungen des Untersuchungsmediums hervor: es entstehen Producte (Säuren oder Alkalien), welche als chemische Reize wirken, und es ist oft schwer, diese und die eigentlichen elektrischen auseinander zu halten. Je rascher nach der Schliessung und je entfernter von den Elektroden die Veränderungen eintreten, um so sicherer können sie dem elektrischen Reize zugeschrieben werden. Inductionsströme und einzelne Schliessungs- oder Oeffnungsschläge können bei morphologischen Beobachtungen noch am ehesten verwerthet werden. Bei der einfachsten Anordnung klebt man Stanniolstreifen auf den Objectträger, die je nach dem gegebenen Fall verschieden geformt sein müssen; ihre Enden, welche in die Zelle hineinragen, sollen nicht weiter als einige Millimeter von einander entfernt sein. Eine sehr zu empfehlende Einrichtung, welche sämmtlichen Ansprüchen der Morphologen entsprechen wird, ist die von Stricker ([2] p. XVIII, Figur XI). Das Object haftet auf der unteren Fläche eines Deckglases, welches auf einen Wall von weichem Glaserkitt, als Seitenwand der Zelle, aufgedrückt ist. Ein schmaler Stanniolstreifen tritt von der Oberfläche des Objectträgers von zwei entgegengesetzten Seiten her auf den Wall und reicht bis an den inneren Rand desselben. Das Deckglas trägt ähnliche zwei Stanniolstreifen, welche in der Mitte einige Millimeter von einander endigen. Der Zwischenraum zwischen den Enden der Streifen wird vom Object überbrückt. Wenn nun das Deckglas in der Weise dem weichen Wall aufgedrückt wird, dass seine Stanniolstreifen auf die des Walles zu liegen kommen, so ist neben einem hermetischen Verschluss der Zelle auch die Ergänzung der Strombahn erreicht. — Die Schilderung von anderen Einrichtungen, die zu diesem Zwecke noch empfohlen worden sind, würde uns zu weit auf das Feld der physiologischen Mikrotechnik führen.

Die **Apparate für raschen Temperaturwechsel** bestehen alle im Wesentlichen aus einem Objectträger, durch welchen rasch hintereinander beliebig warmes und kaltes Wasser geleitet werden kann. — Zu einer **plötzlichen starken Beleuchtung** braucht man gar keine besonderen Einrichtungen, höchstens eine gute Sammellinse, wenn die Lichtstrahlen das Object von oben treffen sollen; sonst genügen

die gewöhnlichen Beleuchtungsapparate des Mikroskops. Wie man sich deren zu diesem Zwecke zu bedienen hat, braucht wohl nicht erörtert zu werden.

Passive Bewegungen des Objectes unter dem Mikroskop rufen wir meist deshalb hervor, damit wir es in verschiedener Lage betrachten können. Ein und dasselbe Object von allen Seiten zu besichtigen, ist aber entweder zur richtigen und leichteren Beurtheilung seiner Formverhältnisse oder deshalb nothwendig, damit die einzelnen Bestandtheile in die der Untersuchung optisch günstigste Lage kommen[1].

Kleine Objecte, die sich in jeder Richtung, oder wenigstens nach zwei Dimensionen, frei in der Zelle bewegen, bringt man am einfachsten dadurch zur Veränderung ihrer Lage und zum **langsamen Rollen im Gesichtsfelde**, dass man mit Löschpapier vorsichtig etwas Flüssigkeit unter dem Deckglase wegsaugt und eventuell von der anderen Seite zusetzt. Die so hervorgerufene **Strömung** darf natürlich blos sehr gering sein, wenn man ein bereits ins Auge gefasstes Object nicht wieder verlieren will.

Ueberhaupt sollen die Lageveränderungen so langsam vor sich gehen, dass man den Uebergang von einer Lage in die andere und dabei die Veränderungen des Anblickes zu verfolgen im Stande sei. Ist also die Strömung anfänglich zu rasch, so muss man warten, bis sie nachlässt (das saugende Löschpapier entfernen) und die letzten Bewegungen der zu beobachtenden Elemente, bevor sie wieder zur Ruhe kommen, ausnutzen. Deshalb finde ich auch hier die Ricinusölzelle mit ziemlich breiter Oelzone am besten. Man saugt blos vom Oel etwas weg und vermeidet damit die Gefahr, dass vielleicht gerade das Interessanteste aus der Zelle herausgerissen oder an eine ungünstige Stelle geschwemmt wird. Auch kann so jede beliebige Stromgeschwindigkeit erreicht werden, je nachdem man durch das Anlegen eines breiteren oder schmäleren Löschpapierstreifens mehr oder weniger Oel auf einmal wegsaugt.

Schwieriger ist es, die Lage von solchen Gegenständen in der Zelle zu verändern, bei welchen durch das Rollen eine solche Di-

---

[1]) So sind z. B. die rothen Blutkörper der Säugethiere als Scheiben mit centraler Delle zwar auch dann zu erkennen, wenn man sie blos von der Fläche sieht, aber nur auf Grund einer sorgfältigen optischen Analyse und eines Vergleiches der Bilder, welche verschieden hohe Einstellungen geben, wogegen, wenn sich ein solches Körperchen auf die Kante stellt, seine charakteristische Form sofort ins Auge fällt. Andrerseits mag ein kleiner Wurm sonst ziemlich durchsichtig und zur Untersuchung in toto während des Lebens ganz geeignet sein, und doch kann man z. B. den Bauchstrang blos bei Bauchansicht, das Hauptgefäss dagegen blos bei Rückenansicht gut, die Nephridien zum Theil wieder bei Seitenansicht besser sehen u. s. w.

mension des Körpers in den Höhendurchmesser der Zelle kommen würde, welche grösser ist als die Höhe der Zelle. Möglich ist das Rollen solcher Gegenstände gelegentlich dadurch, dass man das Deckglas mit oder ohne besonderen Druck über dem Object verschiebt, wenn man dazu die geeignete Richtung getroffen hat, oder dadurch, dass man einen starken Flüssigkeitsstrom durch die Zelle leitet. Besonders bei der ersteren Methode ist die Gefahr einer Verletzung, ja sogar einer Zerquetschung des Objects sehr gross. Nichtsdestoweniger wurden dazu auch besondere Apparate empfohlen, sogenannte **Roller**. Der einfachste Roller besteht aus dem Daumen und dem Zeigefinger des Beobachters, zwischen welchen er das auf Wachsfüssen ruhende Deckglas und den Objectträger über einander hinwegschiebt.

Der vom Anfang der vierziger Jahre stammende mikroskopische Roller von Mandl (compresseur à reculement) wurde in den früheren mikrographischen Werken zwar oft erwähnt, aber wenig empfohlen (Hugo von Mohl p. 262, Harting [1] Bd. III, p. 353 etc.); benutzt wurde er kaum. Uebrigens gehören auch diese Methoden schon mehr in das folgende Capitel.

Wo die einfache Verschiebung des Deckglases über der Ricinusölzelle oder den Klebwachsfüsschen mit einer Nadel zum Wenden des Objectes nicht genügt, da verzichte man lieber darauf und suche sich anderswie zu helfen. Oft kann man es auch leicht, wenn man das ganze Präparat umdreht und einfach den früheren Objectträger zum Deckglas werden lässt. Damit das eigentliche Deckglas den Objecttisch nicht berührt und dadurch verschoben oder auf das Object gedrückt wird, klebt man vorher zwei Schutzleisten von passender Dicke auf den Objectträger. Da indessen die Dicke der gewöhnlichen Objectträger stärkere Vergrösserungen unanwendbar macht, so baut man auch den Boden der Zelle aus einem blos etwas grösseren Deckglase. Sehr praktisch sind die von Rabl ([2] p. 218 Figur 1) eigentlich zur Betrachtung der sich theilenden Zellen von beiden Seiten verfertigten, aber auch für Furchungsstadien von kleinen Eiern und dergl. empfohlenen **Objectträger für obere und untere Ansicht**. Sie bestehen aus einem viereckigen Glasrahmen, dessen Seitenstücke höher sind und beim Umdrehen als Schutzleisten dienen, damit das eigentliche Deckglas nicht den Objecttisch berühre; die Mitte des Rahmens ist von einem grösseren, aber gleich dünnen, aufgeklebten Deckglas überbrückt, worauf das Object gelegt wird[1]. Auch **Objectträger für Seiten-**

---

[1]) Zu einem Objectträger, welchen ich im Wesentlichen in der von Rabl angegebenen Weise zu verfertigen pflege, gebrauche ich zwei Objectträger englischen Formats und zwei dünne Deckgläser: das als Objectträger

ansichten sind construirt worden. Bei diesen bestehen die Seitenwände der Zelle aus schräg gestellten spiegelnden Flächen, die das Bild der Seitenflächen des Objectes dem Beobachter zu reflectiren. Bisher giebt es indessen keine Einrichtung von dieser Art, welche ihrem Zwecke vollkommen entsprechen würde.

§ 29.

Mittel zum Erhöhen der Erkennbarkeit von Structurverhältnissen des lebenden Objectes: verschiedene Beleuchtungsweisen mit gewöhnlichem Licht.

Zu den **verschiedenen Beleuchtungsweisen** übergehend, so können wir die Methoden, nach welchen sie hervorgebracht werden, hier nicht schildern, da wir damit eigentlich eine Gebrauchsanweisung für die jedem grösseren Mikroskope beigegebenen Beleuchtungsvorrichtungen bringen müssten. Wir wollen uns also darauf beschränken, den Zweck und die Indication der verschiedenen Beleuchtungen bei der Untersuchung während des Lebens auseinanderzusetzen und das, was bereits im § 18 angedeutet, zu ergänzen. Wenn die Nothwendigkeit der Beobachtung bei verschiedener Beleuchtung, um die nach mehrerlei Methoden bereits erreichte Differenzirung verwerthen zu können, sogar für Dauerpräparate evident ist, so muss sie es noch viel mehr in unserem gegenwärtigen Fall sein, wo wir die Differenzirung selbst durch die besonderen Arten der Beleuchtung erzielen wollen.

Was zunächst die Verwendung des **auffallenden Lichtes** für Objecte, welche eine Untersuchung beim durchfallenden ebenso gut zulassen, betrifft, so ist diese, oder wenigstens die **Dunkelfeldbeleuchtung**, nie zu versäumen, denn oft werden wir blos durch den Vergleich der

---

dienende, von den Dimensionen von 23/40 mm, das als eigentliches Deckglas dienende, von 18/18 mm oder von beliebigen anderen, geringeren als die des ersteren. Von dem einen Objectträger schneide ich die rechte und die linke Seite 16-18 mm breit ab und brauche blos diese Stücke; vom anderen dagegen blos vom vorderen und hinteren Rande je einen 4 mm breiten Streifen. Diese klebe ich in der Weise auf die zwei Seitenstücke, dass ein Rahmen von der Grösse des englischen Objectträgers entsteht. Dann drehe ich diesen Rahmen herum und klebe mit Canadabalsam das grosse Deckglas auf die bisherige Unterfläche der Langseiten des Rahmens auf. Die nach Rabl zwischen den schmalen Streifen auf die breiten unten aufzuklebenden Glasstücke (die Seitentheile des Objectträgers, von welchem die schmalen Streifen abgegeschnitten wurden) sind nicht nothwendig, besonders wenn man die scharfen Schnittränder der Streifen mit Schmirgelpapier etwas abschleift, damit sie den Objecttisch nicht zerkratzen.

zweierlei mikroskopischen Bilder, die bei auffallendem oder scheinbar auffallendem und durchfallendem Licht entstehen, eine richtige Vorstellung von unserem Gegenstand gewinnen können. Gewisse kleine Unterschiede von grosser Bedeutung in der Durchsichtigkeit, in der Stärke und der Natur der Lichtbrechung und sogar der Färbung, welche einem bei durchfallendem Licht, oder wenn das Gesichtsfeld selbst hell ist, entgehen würden, sind bei auffallendem Licht, oder wenn das Gesichtsfeld selbst dunkel ist, sofort wahrzunehmen.

Leider ist das **eigentliche auffallende Licht**, wo sich also die Lichtquelle über dem Object befindet, blos bei schwachen, kaum mehr bei mittelstarken Vergrösserungen zu verwerthen, ausgenommen es werden letztere durch schwache Objective und starke Oculare erzielt. Man muss diese Untersuchung auch mit dem zusammengesetzten Mikroskop sowohl **auf schwarzer**, als auch **auf weisser** (eventuell anders gefärbter) **Unterlage** vornehmen; die Bilder sind gelegentlich sehr verschieden und erst dadurch, dass sich beide ergänzen, erkennt man an seinem Objecte alles, was bei auffallendem Lichte zu sehen ist. So kann man z. B. die Farbe einer opaken Stelle des Gegenstandes blos bei auffallendem Licht und auf weissem Grunde ganz richtig mikroskopisch beurtheilen, wogegen die Unterschiede in der Lichtbrechung und der Durchsichtigkeit der Bestandtheile bei oberer Beleuchtung blos auf schwarzem Grund deutlich genug hervortreten.

Man darf indessen nicht vergessen, dass blos dann ausschliesslich auffallendes Licht zur Wirkung kommt, wenn man eine schwarze Unterlage benutzt und zugleich das Object nicht hoch über dieser Unterlage liegt. Von einer weissen Unterlage werden die Lichtstrahlen gegen das Object, welches sich nicht unmittelbar auf dieser befindet, sondern von ihr durch den durchsichtigen Objectträger getrennt ist, reflectirt, und es entsteht auch eine untere Beleuchtung, die bis zu einer gewissen Grenze umso stärker, aber auch um so diffuser ist, je weiter das Object von der Unterlage entfernt ist, z. B. bei der Untersuchung im hangenden Tropfen. Diffuses durchfallendes Licht macht aber feinere Contouren immer etwas verschwommen, was wir auch bei Beleuchtung mit Spiegel und Cylinderblende oder mit dem ABBE'schen Apparat oft unangenehm genug empfinden, wenn das Object in der Zelle nicht nahe genug zum Objecttisch des Mikroskopes gebracht werden kann.

Sobald die Vergrösserung über das Mittelstarke geht, sind wir, wenn wir gewisse Effecte der oberen Beleuchtung hervorrufen wollen, auf die **Dunkelfeldbeleuchtung**, am besten durch Abhaltung der Axenstrahlen vermittelst einer Sternblende angewiesen, ohne jedoch in den meisten Fällen befriedigt zu werden; denn auch die Sternblendenbeleuchtung leistet bei mittelstarken Vergrösserungen ihr Bestes. Deshalb ist es, um gewisse Lichtbrechungsdifferenzen gut beurtheilen zu können, in unserer mikrotechnischen Praxis wenigstens, nicht selten vortheilhafter, die nothwendige starke Verdunkelung des Gesichtsfeldes,

durch sehr schiefe, besser steile Stellung des in der Mikroskopachse bleibenden, nicht seitlich verschobenen Spiegels ohne Anwendung des Abbe'schen Apparates zu versuchen, oder mit dem letzteren durch sehr starkes Zuziehen der Irisblende, oder durch excentrische Stellung der Blendenöffnung, wodurch eine einseitige schiefe Beleuchtung zu Stande kommt. Die einzelnen Elemente werden so, je nachdem ihre Lichtbrechung mehr oder weniger die des umgebenden Mediums übertrifft, bei hoher Einstellung glänzender weiss, bei tiefer Einstellung dunkler werden, als sonst, d. h. bei mässig gedämpfter Beleuchtung. Dagegen sind bei der eigentlichen Dunkelfeldbeleuchtung durch Sternblenden die stärker als die Umgebung brechenden Gegenstände umgekehrt bei hoher Einstellung dunkel mit hellen Contourlinien und bei tiefer Einstellung hell, obwohl nicht glänzend, mit dunklen Contouren. Auf andere Wirkungen der schiefen Beleuchtung, die hier mitspielen, kommen wir gleich zurück.

Bei **durchfallendem, gewöhnlichem** (nicht polarisirten) **Licht** ist neben der Richtung der Beleuchtung, ob diese eine gerade oder schiefe ist, das **Wechseln der Intensität des Lichtes**, in welchem das Gesichtsfeld erscheint, das wichtigste Mittel zur Differenzirung des mikroskopischen Bildes in unserem Falle. Ob das Vermindern der Helligkeit des Gesichtsfeldes bei eingesetztem Abbe'schen Apparat, mit welchem stets besser der Planspiegel zu verwenden ist[1], durch Zusammenziehen der Irisblende oder durch Senken des Apparates, ohne Benutzung des Abbe'schen Apparates dagegen durch Einsetzen von engeren Blenden oder Senken des Spiegels, hier beinahe immer besser des Concavspiegels, oder in beiden Fällen durch Herabsetzen der Lichtstärke der Lichtquelle selbst (z. B. durch Einschalten von mattem oder gefärbtem Glase zwischen Spiegel und Lichtquelle) bewerkstelligt wird, ist auf den Charakter und die Schärfe des Bildes von umso grösserem Einfluss, je stärker die Vergrösserung. Bei ganz schwachen Vergrösserungen stufe man das Licht in welcher Weise immer so weit ab, bis das Bild scharf genug erscheint, und wie man es für die Beobachtung am angenehmsten findet; am wenigsten geeignet ist jedoch auch hier die Beleuchtung mit der ganzen Spiegelfläche ohne

[1]) Ausgenommen natürlich, wenn die Vergrösserung so gering und die Lichtquelle so beschränkt ist, dass das Bild der letzteren (z. B. die Lampe, die Fensterrahmen etc.), wenn auch verschwommen, so doch eine ungleichmässige Beleuchtung verursachend, im Gesichtsfelde erscheint; in diesem Fall muss immer der Concavspiegel benutzt werden.

ABBE'schen Apparat und ohne Diaphragma, da diese das Bild am meisten verschwommen macht.

Bei schwierigen Beobachtungen achte man darauf, dass kein anderes Licht als das von unten kommende weder das Object, noch das Auge des Beobachters treffe. Ein **schwarzer Schirm**, welcher sowohl das Object als auch das beobachtende Auge von oben und von den Seiten beschattet, ist deshalb sehr nützlich. Im Uebrigen wird man es kaum vermeiden können, die richtige Beleuchtung in jedem gegebenen Fall und für jeden Bestandtheil des Objectes durch Probiren festzustellen.

Ich verfahre bei der **optischen Analyse des lebenden Objectes** mit stärkeren Vergrösserungen ohne Immersion (z. B. apochrom. Objectiv 4 mit Compensationsocular 8 = 500facher Vergrösserung) in Betreff der Beleuchtung **mit gewöhnlichem durchfallendem Licht** in der folgenden Weise. Ich benutze zuerst den ABBE'schen Beleuchtungsapparat, ziehe aber während der genaueren Einstellung (die erste Einstellung sowohl, als auch die erste Untersuchung überhaupt, geschah bei einer schwächeren Vergrösserung) die Irisblende etwas zu, damit ich mich in Bezug auf die sich im Gesichtsfelde befindenden Bestandtheile orientiren kann.

Die eigentliche **Beobachtung** beginne ich aber **mit ganz geöffneter Blende** und **voller Beleuchtung**. Alles, was, bei genügender Durchsichtigkeit, eine eigene Färbung besitzt, also nicht blos in Folge der ungleichen Brechbarkeit der verschiedenfarbigen Strahlen (von der chromatischen Aberration der Linsen selbst können wir bei apochromatischen Objectiven ganz absehen), von Interferenzerscheinungen oder Contrastwirkungen gelegentlich gefärbt aussieht, wird in seiner wahren Farbe und in seiner unverfälschten Form und Grösse hervortreten, und zwar mit umso schärferen Contouren, je stärker die Färbung ist. Neben den gefärbten Bestandtheilen werden im Bilde auch diejenigen Elemente erscheinen, deren Lichtbrechung viel stärker oder viel schwächer ist als die ihrer unmittelbaren Umgebung; so sind als erstere z. B. Fetttröpfchen (im Medullarplasma von Infusorien), Chitingebilde, Kalk- und Kieselkörper (Panzer der Diatomaceen, Spicula in jungen Schwämmen) etc., als letztere z. B. die mit Luft gefüllten Verzweigungen des Tracheensystems von im Wasser lebenden Insectenlarven und dergl. auch bei der stärksten Beleuchtung sichtbar. Endlich kommen noch ganz undurchsichtige Dinge schwarz, opake dagegen grau, je mehr sie sich der Undurchsichtigkeit nähern, um so dunkler zum Vorschein. (Die wirkliche Färbung von opaken Dingen erkennt man, wie erwähnt, blos bei auffallendem Licht, auf weissem Grunde.)

Aber nicht blos das Gefärbte, sondern überhaupt alles, was bei dieser vollen Beleuchtung nur sichtbar ist, erscheint allein in dieser Weise in den unverfälschten Formen und Dimensionen des davon gewonnenen optischen Durchschnittes, wie im § 32 noch auseinandergesetzt werden soll. Deshalb muss man sämmtliche Gebilde, die im mikroskopischen Bilde schon bei voller Beleuchtung erscheinen und zwar dabei auch von den optischen Einwirkungen der noch unsichtbaren übrigen Elemente unbeeinflusst erscheinen, ja so messen, zeichnen, zählen und verfolgen[1].

Oft wird indessen bei einer so starken Beleuchtung gar kein mikroskopisches Bild erscheinen. Dann muss man die Irisblende vorsichtig so weit zusammenziehen, bis die ersten Züge des Bildes aus der Fluth des das Gesichtsfeld überschwemmenden Lichtes emportauchen.

Nachdem man so das Bild bei möglichst starker Beleuchtung erschöpft hat, zieht man die Irisblende allmählich weiter zusammen, man untersucht bei **gedämpfter Beleuchtung**. Man sieht dabei die verschiedenen Structurelemente nach und nach, im Allgemeinen in abnehmender Reihenfolge ihrer Lichtbrechungsstärke erscheinen, und das anfangs leere mikroskopische Bild sich mit Einzelheiten füllen.

Je mehr Neues nun auf einmal erscheint, umso schwerer ist es, jedes Ding gesondert, von den anderen optisch unbeeinflusst, zu beobachten und zu beurtheilen. Deshalb halte man, sobald etwas Neues erschienen ist, mit dem Zusammenziehen der Irisblende ein, um das Erschienene in Ruhe beobachten zu können. Auch lasse man es beim weiteren Zusammenziehen der Blende zunächst nicht aus den Augen; denn bevor man das neu Erscheinende betrachtet, muss man das bereits Wahrgenommene bei der gedämpfteren Beleuchtung weiter prüfen: manches, was man früher blos vermuthen konnte, wird jetzt bestätigt, Vieles, was früher eben nur wahrnehmbar gewesen ist, wird jetzt vollkommen deutlich, blasse und verschwommene Linien scharf und dunkel.

Indessen darf man nicht einmal von den ungefärbten Structurelementen glauben, dass sie bei zunehmender Dämpfung des Lichtes,

---

[1]) So würde ich z. B. die Contouren eines kleinen Krebses, jene mannigfaltigen Formen der Gliedmaassen und ihrer Borsten immer bei solcher Beleuchtung entwerfen; die zarteren Zeichnungen (Streifung, Punktirung etc.) lassen sich dann nachträglich eintragen. Ebenso würde ich die Zahl, Lagerung, Form und Grösse der Chlorophyllkörperchen, die in einem grünen Stentor vorhanden sind, nie bei einer gedämpfteren Beleuchtung zu bestimmen suchen: kleinere Chlorophyllkörnchen sind dann nie sicher während des Lebens von anderen Granulationen des Protoplasmas, die ebenso grün erscheinen können, aber eigentlich farblos sind, unterscheidbar.

d. h. Verengung der Apertur des durchfallenden Lichtkegels, fort und fort schärfer erscheinen, besser sichtbar werden. Bald kommt man zu einer Grenze, wo das bereits deutlich Gewesene anfängt, sich im Gewirr von Licht und Schatten, von Contourlinien und verschwommenen Flecken, welche über- und unterliegende Gebilde auf die eingestellte Ebene werfen, von hellen Reflexsäumen und gefärbten Interferenzlinien zu verlieren; und kann man es auch dabei, wenn man es fortwährend im Auge behalten hat, noch scharf, ja schärfer sehen, bemerkt und erkannt hätte man das Ding unter diesen Verhältnissen sicher nicht. Und damit ist die Grenze, bis wohin die Irisblende zusammengezogen werden darf, erreicht, ausser man will die oben erwähnten Effecte der Verdunkelung des Gesichtsfeldes, die im mikroskopischen Bild immer mehr und mehr dominirend werden, kennen lernen.

Jetzt schreite ich, bevor ich den Abbe'schen Apparat ausschalten würde, zur schlechthin sogenannten **schiefen Beleuchtung** (s. § 32). Durch diese, eigentlich nur excentrische oder mit stark geneigtem (seitlich nicht verschobenem) Spiegel erzielte Beleuchtung erreichen wir dreierlei. Erstens erscheinen dadurch die Schattenlinien breiter, zweitens ist der Unterschied zwischen hell und dunkel grösser, und drittens gewinnt das Object ein gewisses stereoskopisches Aussehen. In Folge des letzteren werden Gebilde, welche sich an der Oberfläche eines Gegenstandes befinden, als Erhabenheiten und eine convexe oder concave Oberfläche als so beschaffen direct wahrgenommen[1]. Es erscheinen nämlich die über und unter dem optischen Durchschnitte, welcher bei gerader Beleuchtung allein im mikroskopischen Bilde scharf vertreten ist, liegenden Ebenen mit in die Einstellungsebene versetzt und rufen so ein körperliches Aussehen des Gegenstandes hervor. Sonst würden sie das Bild durch ihre Schatten und Reflexe, die in die eingestellte Ebene fallen und dort dunkle oder helle Flecke verursachen, blos trüben, wenn man bei so stark gedämpfter Beleuchtung beobachten wollte. Und in Folge dessen, dass die Schattenlinien breiter und auch dunkler werden, sind sehr zarte Zeichnungen, Streifungen und Punktirungen, sowohl welche auf Unebenheiten von Flächen, als

---

[1]) So erscheint z. B. die obere Fläche eines Paramaeciums durch die Wimpern deutlich behaart (nicht blos an der gerade scharf eingestellten Stelle punktirt oder gestrichelt, wie bei gerader Beleuchtung) und bei richtig getroffener Einstellung auf einen Blick als convex. Ich weiss nicht, wie es bei Anderen der Fall ist, auf mich macht aber das bei schiefer Beleuchtung gewonnene mikroskopische Bild immer einen mehr oder weniger ausgeprägt stereoskopischen Eindruck.

auch welche auf Dichtigkeitsunterschieden beruhen. bis zu einer gewissen Grenze leichter wahrnehmbar. Die beste Neigung der Lichtstrahlen muss für jeden Fall durch Probiren besonders festgestellt werden[1].

Wenn ich nun Alles, was bei solchen Beleuchtungen zu holen war, erschöpft habe, so schalte ich den Abbe'schen Apparat aus und beobachte weiter mit **einfacher Spiegelbeleuchtung und Cylinderblende**. Anfangs nehme ich auch hier eine weitere Blendenöffnung und schreite nach und nach bis zur engsten vor. Man kann auch den Planspiegel versuchen, indessen wird man den Hohlspiegel beinahe immer vortheilhafter finden. Endlich kann man auch den Spiegel bald höher, bald tiefer stellen: Manches wird im ersteren, Manches im letzteren Fall deutlicher. Alles dieses deshalb, weil ungefärbte Gegenstände, welche so dünn sind, dass die Lichtstrahlen wegen der Kürze des Weges durch sie sowohl in Bezug auf ihre Richtung als auch in Bezug auf ihre Beschaffenheit nur ausserordentlich wenig modificirt werden, ohne Beleuchtungsapparat entschieden auffälliger sind. So kann man sehr kleine Körnchen und sehr zarte Fädchen auch im lebenden Object vielleicht noch wahrnehmen, aber nur dann, wenn sie durch Schatten und Reflexe von über ihnen und unter ihnen liegenden oder benachbarten Elementen nicht verdeckt werden. Die störende Wirkung der letzteren wächst nämlich mit der Enge der Blendenöffnung in einem höheren Grade, als die Auffälligkeit der fraglichen Punkte oder Linien. Daraus folgt, dass sie bei dieser Art und Weise der Beleuchtung nur dann besser als mit dem Beleuchtungsapparat zu beobachten sind, wenn erstens die Schichte selbst, wo sie liegen, sehr dünn oder be-

---

[1]) Handelt es sich z. B. um nahe aneinander, parallel verlaufende zarte Linien, so dürfen die Schatten nicht breiter als die Hälfte des Abstandes der Linien voneinander sein. Werden sie durch eine noch schiefere (und zwar in der That schiefe) Beleuchtung breiter, so werden, abgesehen davon, dass sie je breiter, umso weniger dunkel werden, die lichten Streifen, welche zwischen den dunklen liegen, entsprechend schmäler und daher schwerer sichtbar, wodurch die ganze Streifung verschwinden kann. Ist die Beleuchtung dagegen zu wenig schief, so überwiegt im Bilde das Licht zu sehr und die dunklen Streifen sind eventuell so schmal, dass die Streifung deshalb unsichtbar bleibt. In der That erscheinen die Linien in keinem Fall in ihrer natürlichen Lage, sondern sind in der Richtung der Lichtstrahlen (auf das mikroskopische Bild bezogen, selbstverständlich in der entgegengesetzten Richtung) verschoben, und auch ihre thatsächliche Breite und Entfernung kann man nicht richtig beurtheilen. Sie werden blos auffälliger, und es kann blos ihr Vorhandensein leichter constatirt werden (s. hierüber im § 32).

sonders durchsichtig ist, und zweitens, wenn letztere nur sehr wenig andere geformte Bestandtheile enthält[1].

Oelimmersionssysteme soll man jedoch dabei nicht verwenden, denn die Vortheile von diesen kommen nur bei einer Beleuchtung mit dem Abbe-schen Apparat zur Geltung und höchstens bei mässig verengter Irisblendenöffnung, wenn der Durchmesser der hell bleibenden Scheibe, welche beim Hineinschauen in den Tubus ohne Ocular zu sehen ist, mindestens den vierten Theil des ganzen bei geöffneter Blende sichtbaren Kreises beträgt. Und dieses entspricht einer Irisblendenöffnung (beim grossen Modell von Zeiss) von 8 mm thatsächlichem Durchmesser, wogegen man mit Trockensystemen bei derselben Vergrösserung oft sogar eine bis 1 mm zusammengezogene Blende vortheilhaft finden kann.

§ 30.

Mittel zum Erhöhen der Erkennbarkeit von Structurverhältnissen des lebenden Objectes: Polarisirtes Licht. Spectralanalyse.

Endlich setze ich den Abbe'schen Apparat wieder ein und greife zur letzten Art und Weise der Beleuchtung, welche kein Beobachter von lebenden Gegenständen unterlassen sollte. Diese, das **polarisirte Licht**, ist nämlich unsere allerwichtigste, streng genommen die einzige, gegenwärtig praktisch verwerthbare Methode der **qualitativen mikroskopischen Analyse** von lebenden Structurbestandtheilen, welche für sich allein zuverlässige unterscheidende Merkmale zu enthüllen im Stande ist. Sämmtliche bisher besprochenen Methoden liessen entweder blos eine **quantitative Analyse** zu, indem sie uns, ausser vom Vorhandensein, blos von der Lage und von den Dimensionen der Bestandtheile unterrichteten, oder sie liessen zwar auch qualitative Unterschiede, so die Farbe, die Durchsichtigkeit, die Dichtigkeit (verschiedenen Wassergehalt) oder die Stärke der Lichtbrechung erkennen, aber die optischen Erscheinungen, aus welchen man auf diese zu schliessen pflegt, können auch aus verschiedenen anderen Ursachen entstanden sein, so dass man blos durch die Combination verschiedener Beobachtungen einigermassen sichere Schlüsse ziehen kann. Dagegen kann

---

[1]) Z. B. sehr zarte Spermatozoen in dünnster Lage ausgebreitet; die Kragen und Geisseln kleinster Choanoflagellaten, die Geisseln von Bacterien; die feinsten Fädchen, mit welchen die Fibrinausscheidung in einer Blutprobe beginnt, die blos eine Lage von Zellen enthält; die Beschaffenheit von dünnen, fadenförmigen Pseudopodien oder membranartigen Ausbreitungen des Protoplasmas von Rhizopoden. Diese und ähnliche Dinge sind am meisten für eine Untersuchung ohne Beleuchtungsapparat und mit kleiner Blendenöffnung bei starken Vergrösserungen geeignet.

die **Eigenschaft der Doppelbrechung**, die der **optischen Anisotropie** von Structurbestandtheilen, worüber uns die Untersuchung im polarisirten Licht unterrichtet, bei den nothwendigen Cautelen[1] durch nichts Anderes vorgetäuscht werden, nur kann die Doppelbrechung selbst von verschiedenen Ursachen in der molecularen Beschaffenheit des Gegenstandes herrühren, in Betreff deren blos so viel, indessen auch nicht ganz ohne Ausnahme, behauptet werden darf, dass das Ding nicht flüssig ist.

Leider wird sich eine thatsächlich vorhandene Anisotropie nur dann kundgeben, wenn die wirksame Schicht verhältnismässig ziemlich mächtig ist, sonst ruft sie keinen augenfälligen Effect hervor. Allerdings leisten die gegenwärtigen Polarisationseinrichtungen auch in dieser Richtung bedeutend mehr als die früheren, aber noch immer nicht genug, so dass man für zartere, bloss bei stärkerer Vergrösserung sichtbare Elemente nur ausnahmsweise auch die Natur der Anisotropie näher bestimmen kann. Wo dieses möglich ist, giebt, vom Grade der Doppelbrechung abgesehen, die Bestimmung dessen, ob eine doppelbrechende Substanz optisch positiv oder negativ, ein- oder zweiachsig ist, und davon, wie die Axen des Elasticitätsellipsoids in einer geformten Substanz, z. B. in einem Structurbestandtheil des Objectes, gerichtet sind und welche relativen Grössen die Axen besitzen, unterscheidende Merkmale, welche man mit keinem anderen mikrographischen Prüfungsmittel herausbekommen kann.

Diese Bestimmungen sind aber in der mikrographischen Praxis keineswegs leicht auszuführen, am wenigsten bei lebendigen Objecten. Hier mitzutheilen, wie man dabei verfährt, würde uns zu weit führen. In dieser Beziehung müssen wir den Leser auf die im folgenden Paragraphen aufgezählten Quellen verweisen und uns auf **drei praktische Winke** beschränken, die hauptsächlich **dem Anfänger** dienen sollen, welcher sich zunächst mit der Bestimmung davon begnügen kann, ob ein Gegenstand doppelt- oder einfachbrechend, optisch anisotrop oder isotrop

---

[1]) Zu diesen gehört, wie weiter unten auseinandergesetzt ist, in erster Linie das Abhalten der störenden oberen und seitlichen Lichtstrahlen vom Object. Die Grenzlinien und Grenzflächen von Substanzen mit grossem Lichtbrechungsunterschied erscheinen bei gekreuzten Nicols im dunkeln Gesichtsfelde als helle, ja sogar stark glänzende Gebilde, so oft sie das Licht auch von oben und den Seiten trifft, ebenso wie überhaupt bei auffallendem Licht auf schwarzem Grunde. Sie verschwinden aber, sobald die Lichtstrahlen nur durch den Polarisator zum Object gelangen, wogegen die wirklich doppelt brechenden Gegenstände, wenn sie sich in der entsprechenden Lage befinden, im dunkeln Gesichtsfelde umso heller und glänzender hervortreten.

ist. Dass er über den Gebrauch der Polarisationseinrichtung selbst bereits unterrichtet ist, müssen wir voraussetzen.

Wenn erstens ein schwarzer Schirm schon bei der Beobachtung im einfachen durchfallenden Licht vortheilhaft ist, so ist eine Einrichtung, welche von Auge und Object alle Lichtstrahlen, die nicht vom Beleuchtungsapparat herkommen, abhält, bei Untersuchungen im polarisirten Licht ganz unentbehrlich. Abgesehen von der Beunruhigung des hier so sehr in Anspruch genommenen Auges, können einerseits die Lichtstrahlen, die den Polarisator und den Beleuchtungsapparat nicht passirt haben, besonders wenn sie von oben auf das Object fallen und die Vergrösserung eine geringere ist, eine Doppelbrechung oder einen Grad von Doppelbrechung, die den thatsächlichen Verhältnissen nicht entsprechen, vortäuschen, indem sie die Gegenstände im dunkeln Gesichtsfelde bei gekreuzten Nicols beleuchten, ihnen sogar einen starken Glanz verleihen. Andererseits können in dieser Weise eine wirklich vorhandene Doppelbrechung oder Unterschiede im Grade der Doppelbrechung dem Auge leicht entgehen, die sonst bei Abhaltung der störenden Strahlen leicht wahrnehmbar sind.

Zweitens muss die Beobachtung im polarisirten Lichte immer mit schwachen Vergrösserungen begonnen werden, aber es darf auch der Versuch, die stärksten anzuwenden, nicht unterbleiben. Oft ist nämlich die Doppelbrechung bei schwachen Vergrösserungen viel eclatanter als bei starken, wo der Glanz viel matter wird, ja ganz verschwimmen und so, hätte man die Untersuchung gleich mit starken Vergrösserungen angefangen, unbemerkt bleiben kann. Dagegen wird ein bei schwacher Vergrösserung homogen erscheinender, zwischen gekreuzten Nicols heller Bestandtheil des Gegenstandes erst mit starker Vergrösserung in seine weiteren Componenten zerlegt und die eigentlichen Structurbestandtheile, die die Doppelbrechung verursachen, erkennbar.

Drittens liegt es in der Natur der doppelbrechenden Substanzen, dass die auf ihre Doppelbrechung hin untersuchten Objecte in der verschiedensten Lage und von verschiedenen Richtungen beobachtet werden müssen. Alle Gegenstände bleiben ja, wenn sie auch doppelbrechend sind, zwischen gekreuzten Nicols, wie bekannt, dunkel, sobald eine optische Axe der die Doppelbrechung bedingenden Substanzen der optischen Axe des Mikroskops parallel gerichtet ist. Deshalb muss man nicht nur den Objectträger in jeder Richtung drehen, eventuell auch wenden (s. die Objectträger für Beobachtung von beiden Seiten auf p. 270), sondern das Object auch in verschiedene andere Lagen

bringen, bald auf die Fläche, bald auf die Seite legen oder auf das eine Ende aufstellen, in verticaler und jeder schrägen Lage festhalten können. Wie und inwiefern dies möglich ist, haben wir weiter oben ausführlich mitgetheilt.

Bevor wir diesen Paragraphen beendigen, müssen wir noch einer Methode der optischen Analyse, die in gewissem Grade auch für die Beobachtung des lebenden Objectes verwerthbar ist, gedenken. Das ist die Prüfung der Veränderung der Lichtstrahlen, welche die zu untersuchende Substanz passirt haben, auf spectralanalytischem Wege. Das **Mikro-Spectroskop** ist im Stande, theoretisch wenigstens, uns über qualitative Unterschiede zu belehren, welche anderswie überhaupt nicht zu erkennen sind.

Am meisten hat man das Mikrospectroskop bisher zur Untersuchung von vegetabilischen (Chlorophyll) und animalischen (Hämoglobin) Pigmenten verwendet, die in verhältnismässig grosser Quantität aus den Organismen extrahirt und ausserhalb des Körpers in passenden Gefässen in den Apparat eingesetzt werden konnten. Indessen ist es auch schon heute sehr gut zur Bestimmung von Pigmenten, die in etwas grösserer Menge in einem thierischen Körper enthalten sind, z. B. wie das Chlorophyll im Körper von Stentor und dergl., das Hämoglobin in den Gefässen von geeigneten Wirbelthieren und manchen Wirbellosen (u. A. vielen Würmern), während des Lebens verwerthbar. Für Bestandtheile, die selbst blos bei stärkerer Vergrösserung wahrnehmbar sind, sind die bisherigen Apparate sehr wenig geeignet, für feinere Untersuchungen des lebenden Gegenstandes gar nicht (s. auch im § 32).

Man kann zwar das Mikrospectroskop sogar bei stärkeren Vergrösserungen (Immersionssystemen) verwenden, allein es resultirt dabei in unseren meisten Fällen gar nichts; denn wenn sogar auffallend gefärbte Substanzen in einer zu dünnen Lage vorhanden sind, wie einzeln genommen die meisten Structurbestandtheile, so geben sie gar keine oder nicht genau bestimmbare Absorptionslinien. (Eine zu dicke Lage ist natürlich auch nicht geeignet, da sie überhaupt ein zu dunkles Spectrum giebt, in welchem vielleicht gerade die am meisten charakteristischen Stellen nicht mehr deutlich zu sehen sind.) Nur wo die gefärbten Bestandtheile in grosser Zahl vorhanden sind und dem Gegenstand eine intensive Gesammtfärbung verleihen, sind die Beobachtungen leicht auszuführen, wie z. B., an den erwähnten Beispielen. Bei einzelnen Chlorophyllkörperchen oder rothen Blutkörperchen kann man, wenn sie richtig eingestellt sind, zwar nicht alle, aber wenigstens einen Theil der bezeichnenden Absorptionen des Chlorophylls, resp. Hämoglobins, wahrnehmen; indessen gehört dazu schon eine ziemliche Uebung.

Die meisten Structurbestandtheile, welche wir mit stärkeren Vergrösserungen zu untersuchen haben, besitzen aber eine viel geringere Mächtigkeit, als die Chlorophyllkörper z. B. eines Stentors. Dazu kommt, dass die farblosen Elemente, für welche ein Mittel mehr zu ihrer Unterscheidung während des Lebens am meisten angezeigt wäre, keine Absorptionen verursachen, welche heute schon mikroskopisch wahrnehmbar wären, obwohl sie

gewisse Strahlen auch stärker als andere absorbiren. Bekanntlich liegen ihre Absorptionen im ultravioletten Theil des Spectrums, ultraviolette Strahlen werden aber durch Glas und Balsam der Mikroskoplinsen verschluckt, bevor sie zu dem Beobachter gelangen.

Dass das Abhalten der störenden Seitenstrahlen bei spectroskopischen Untersuchungen ebenfalls sehr wichtig ist, versteht sich wohl von selbst. Oft genügt ein einfacher Schirm nicht einmal, sondern man muss, um ganz ruhig beobachten zu können, in einer **Dunkelkammer** arbeiten. Da man, je homogener das Licht nach dem Durchtritt durch die eingestellte Substanz geblieben ist, ein umso reineres Spectrum erhält, so muss jede Zeichnung des beobachteten mikroskopischen Bildes, welche auf dem Contrast von Licht und Schatten beruht, ausgelöscht werden. Deshalb beobachte man mit dem Spectralocular (am besten nach Abbe) bei voller Beleuchtung mit dem Abbe'schen Apparat.

Der Vorschlag, welcher seit G. Kraus ([1], p. 12) wiederholt gemacht wurde, dass man den Gegenstand nicht scharf einstelle, sondern etwas tiefer oder höher liegen lasse, hat darin seinen Sinn, dass in dieser Weise blos der Farbeneffect im mikroskopischen Bilde erscheint und so z. B. zerstreute Farbkörner, welche in verschiedenen Ebenen liegen, eine gleichmässige, homogene Färbung im Gesichtsfelde hervorrufen. Bei stärkeren Vergrösserungen stelle man stets höher und nicht tiefer ein, weil bei diesen die unter der Einstellungsebene liegenden Gegenstände bei gleicher Entfernung einen intensiver gefärbten Fleck, als die darüber liegenden dorthin projiciren werden. Hat man indessen einen Abbe'schen Apparat von hinreichender Apertur (z. B. 1·40), so kann man auch genau einstellen, denn der Gegenstand wird, wie erwähnt, falls er nicht sehr stark lichtbrechend ist, blos in Folge seiner Färbung im mikroskopischen Bilde erscheinen.

Eine noch grössere Wichtigkeit für mikromorphologische Untersuchungen während des Lebens könnte, nach meiner Meinung, jene andere Methode der spectralanalytischen Untersuchung erlangen, welche die **Beobachtung** des Objectes **in monochromatischem Lichte,** d. h. in den verschiedenen Theilen des Spectrums ermöglicht, welche nach einander unter das Object geführt und in das Gesichtsfeld projicirt werden. Die zu diesem Zwecke construirten Beleuchtungsapparate mit Zerstreuungsprismen und Projectionssystem, welches den gerade eingestellten Theil des Spectrums in das Sehfeld projicirt, werden nicht ganz passend ebenfalls Mikrospectroskope, besser **monochromatische Beleuchtungsapparate**, genannt. Sie erlauben schon gegenwärtig gewisse qualitative Unterscheidungen auch mikroskopischer Bestandtheile der Organismen, indem diese, je nachdem sie die betreffende Art von Strahlen durchlassen oder absorbiren, in der gerade das Gesichtsfeld oder den Theil des Gesichtsfeldes, wo sie liegen, einnehmenden Farbe, oder

aber dunkel bis schwarz erscheinen. Darüber, inwiefern dieses Prinzip der optischen Analyse in der Mikrotechnik bis jetzt Verwerthung gefunden hat, sollen die wichtigsten Daten im nächsten Paragraphen folgen.

§ 31.

Litteratur und Geschichtliches zu §§ 19-30.

Wir wollen hier zunächst jene Werke erwähnen, welche den Leser über den **gegenwärtigen Stand** der in diesem Capitel behandelten Methoden mehr oder weniger ausführlich belehren können, und zwar werden wir die zusammenfassenden Werke über thierische (z. Th. auch pflanzliche) Mikrotechnik überhaupt mit Angabe der uns hier interessirenden Stellen vorausgehen und dann die Werke, die sich einzelnen Methoden oder Fragen speciell widmen, folgen lassen. Darauf werden wir in chronologischer Reihenfolge jene uns bekannt gewordenen Arbeiten aufzählen, die nach unserer Meinung irgend welche Wichtigkeit für die Kenntniss der Vergangenheit und Entwickelung dieser Methodik besitzen, ohne indessen auch die Geschichte der bei ihr in Anwendung kommenden Instrumente für sich geben zu wollen. Hier und da eingestreute vor- oder zurückgreifende Bemerkungen werden vielleicht zur Brauchbarkeit dieser Uebersicht beitragen können.

Eine so ausführliche Behandlung unseres Gegenstandes, wie er es wegen seiner Wichtigkeit verdiente, suchen wir in den zusammenfassenden Werken über Mikrotechnik eigentlich vergebens.

Die Behandlung des Objectes selbst bei der Untersuchung während des Lebens ist Alles in Allem noch immer bei STRICKER [2] 1869 p. IV-XIX am besten und ausführlichsten geschildert. Dann kommt in dieser Beziehung BEALE [2] 1880, bei welchem die verschiedenen Formen von Objectträgern mit Zellen p. 69-78, Untersuchungsmethoden von niederen Thieren und Pflanzen während des Lebens, von der Blutcirculation, Cilienbewegung, Diapedese etc. p. 186-198 beschrieben sind. Die Anwendungsweise des polarisirten Lichtes (allerdings nur für krystallographische Beobachtungen) p. 220-238 ist zum Theil, die des spectroskopisch zerlegten p. 269-283 ganz von H. C. SORBY. Bei DIPPEL [1] sind die verschiedenen Objecttische, Objectträger, feuchte Kammern p. 653-665 (aus 1882) aufgezählt; von den bereits in diesem Capitel d. v. W. behandelten physikalischen Hilfsmitteln der Beobachtung ist (im III. Hefte aus 1883) die Anwendung des Druckes p. 860-862, die Anwendung erhöhter und verminderter Temperatur, verschiedener Durchleuchtung und von elektrischen Strömen p. 863-866 kurz behandelt. Ausführlich ist dagegen die Anwendung des polarisirten und prismatisch zerlegten Lichtes p. 911-986 dargestellt; ebenso die Eigenthümlichkeit der mikroskopischen Wahrnehmung p. 753-760 und die optische Seite der Behandlung des Gegenstandes überhaupt p. 815-859. Es ist indessen heute noch rathsamer, für diese Sachen zu NÄGELI und SCHWENDENER [2] zurückzugehen, welche die Theorie der

mikroskopischen Wahrnehmung p. 186-247, die Polarisationserscheinungen p. 299-361 behandeln. Auch der achte Abschnitt ihres Buches, „Mikrophysik“ p. 362-465, ist uns hier von grossem Interesse, und wir werden im folgenden Paragraphen auf die dort niedergelegten Principien noch wiederholt zurückzukommen haben.

RANVIER [2 b] 1889 schildert, nachdem er die heizbaren Objecttische, die feuchten Kammern und die Gaskammern p. 35-39 kurz erwähnt hat, die Untersuchungsmethoden während des Lebens blos von der Lymphe (p. 127 u. f.), vom Blut und von den Capillaren (p. 456 u. f.). Dasselbe gilt von FREY [4] 1886 (p. 65-70, wo auch die Eigenthümlichkeiten der mikroskopischen Wahrnehmung angedeutet sind, resp. p. 175 u. f. und im 16. Abschnitt über Gefässe und Drüsen hier und da eingestreut). Eine etwas eingehendere besondere Schilderung erfährt unser Gegenstand bei FOL [2] 1884 p. 87-94, bei BEHRENS-KOSSEL-SCHIEFFERDECKER 1889 p. 138-144, und bei C. FRIEDLÄNDER [2] 1894 (bearb. von C. J. EBERTH) p. 34-41, wo indessen ebenfalls hauptsächlich Blut, Lymphe und Capillaren von Wirbelthieren berücksichtigt sind. Auf dieselben Objecte beziehen sich die bei STIRLING [1] 1893, bei BÖHM und OPPEL [1] 1893, BÖHM und DAVIDOFF 1895 und anderen mehreren eingestreute Winke; dagegen beziehen sich diese bei dem sonst so vollständigen LEE [3] 1893 ausser auf verschiedene Zellen für cytologische Untersuchungen (p. 323-326), die aber mehr die absterbende, als die lebende Zelle betreffen, blos auf Rotatorien p. 448-449 und Protozoën p. 461-462; eine allgemeine Behandlung unseres Gegenstandes fehlt auch bei ihm.

Bei CARPENTER [2] (7., von W. H. DALLINGER besorgte Auflage aus 1891) interessirt uns hier zunächst das über Sammeln des Objectes auf p. 456-459 Gesagte, dann das über verschiedene Vorrichtungen zur Untersuchung lebender Objecte p. 287-301, und das Weitere über Zellen auf p. 386-390, noch mehr aber das Capitel VI „Practical Microscopy“, besonders p. 368-378 über die Eigenthümlichkeiten der mikroskopischen Wahrnehmung und Capitel II über Principien und Theorie des mikroskopischen Sehens (grösstentheils nach ABBE s. w. u.). Letzteres ist übrigens der beste Theil dieses Buches, welches in Bezug auf die eigentliche Mikrotechnik modernen Anforderungen keineswegs genügt, obwohl das betreffende Capitel VII, ebenso wie die vorhergehenden, neu geschrieben wurde.

Sogar dieses (seinerzeit so berühmte) CARPENTER'sche Buch (abgesehen vom theoretisch optischen Theil), noch mehr aber das von G. E. DAVIS [1] 1895 und HOGG [2] 1895 (?), wollen viel mehr dem Dilettanten, als dem angehenden Fachmann dienen. Dasselbe gilt überhaupt von den meisten englischen mikrotechnischen Lehrbüchern, unter denen die erwähnten zu den besten, oder wenigstens beliebtesten gehören: von HOGG liegt die 14. Auflage vor mir. Wir erwähnen sie auch nur deshalb hier, weil in ihnen auch der Fachmann einzelnen praktischen Bemerkungen begegnen kann, die er vielleicht anderswo nicht finden würde und die ihm eventuell doch nützlich sind. DAVIS behandelt das Sammeln des Materials im IX. Capitel p. 203-240, die Untersuchung von lebenden Objecten im X. Capitel p. 240-248; die Anwendung des polarisirten und prismatisch zerlegten Lichtes in Cap. XV-XVI p. 331-351; bei HOGG dagegen muss sich unser Gegenstand ausser der verhältnissmässig ausführlichen Schilderung des Spectroskops und der Polari-

sationseinrichtung auf p. 123-157 mit den paar Seiten von 193-198 begnügen. — Es ist bemerkenswerth, dass die verschiedenen Objectträger mit Zellen und andere Apparate in den englischen Werken meist mit ganz anderen Autoren als dieselben in den deutschen und französischen angeführt werden: gelegentlich mit Recht, oft aber auf Kosten des eigentlichen Erfinders am Continent. Es ist mir auch leider, wegen der Unmöglichkeit einen, wenn auch kleinen, Theil der englischen Aufsätze im Original einzusehen, trotz meiner Bemühungen, auf die ursprünglichen Quellen zurückzugehen, nicht immer gelungen, die Priorität in solchen Fällen zu entscheiden. Beispiele wird der Leser im chronologischen Ueberblick weiter unten finden.

Von den in der Einleitung dieses Buches aufgezählten mikrotechnischen Hand- und Lehrbüchern könnten wir hier höchstens noch CARNOY [1] 1884, erwähnen, und zwar wegen seines dritten Abschnittes (Livre III) p. 130-167 über die Methoden der mikroskopischen Beobachtung und der cytologischen Untersuchungen, wo manche praktische Winke (neben Manchem, was wir nicht unterschreiben würden), die sich in optischer Hinsicht mehr oder weniger direct auf den Gegenstand des vorliegenden Capitels beziehen, enthalten sind. Sonst enthält sein Buch ebenso wie alle übrigen uns bekannten Werke noch viel weniger über die Methoden der Untersuchung während des Lebens, als die bereits hier erwähnten. Umsomehr glaubten wir uns verpflichtet, diesem Capitel einen grösseren Raum in unserem Buche zu gewähren.

Von neueren zusammenfassenden Bearbeitungen einzelner specieller Gegenstände heben wir folgende Werke hervor.

Ueber die Methoden der Anwendung des polarisirten Lichtes, allerdings speciell für mineralogische und petrographische Zwecke, finden wir das Neueste und Ausführlichste bei P. GROTH [1] 1894-95 (auf p. 1-163 und 683-746) und bei H. ROSENBUSCH [1] 1892 (auf p. 78-211). Auf diese und auf NÄGELI und SCHWENDENER [2] 1877 (p. 299-361) stützt sich im Wesentlichen Alles, was H. AMBRONN [1] 1892 in seiner kurzen Anleitung zur Benützung des polarisirten Lichtes in der pflanzlichen und thierischen Histologie in sehr geschickter Weise zusammenstellt.

Die Spectroskopie haben zwei neueste Werke zum besonderen Gegenstand, nämlich das von JOHN LANDAUER [1] 1896 in rein makroskopisch-physikalisch-chemischer Hinsicht, von welchem der Anfänger sehr gut seine physikalischen Vorkenntnisse zur mikrographischen Anwendung dieser Methode schöpfen kann, und das von ALBERT HÉNOCQUE [1] in biologischer Hinsicht mit besonderer Berücksichtigung der Spectroskopie des Blutes.

Theoretisches in Betreff des Sehens überhaupt, der mikroskopischen Wahrnehmung und verschiedener optischer Methoden finden wir bei H. v. HELMHOLTZ [3] 1886-1895, G. C. GÄNGE [1] 1886, W. D. WELFORD and H. STURMEY [1] 1888, A. GLEICHEN [1] 1889, A. STEINHEIL und E. VOIT [1] 1889, und S. CZAPSKI [1] 1893.

Die Geschichte unseres Gegenstandes kann blos auf Grund einer sorgfältigen Zusammenstellung jener kleineren und grösseren Mittheilungen überblickt werden, welche, seit den ersten Decennien dieses Jahrhunderts zerstreut erschienen, die einzelnen Methoden und neue Gesichtspunkte in die Wissenschaft eingeführt oder weiter entwickelt

haben. Bei dieser Zusammenstellung ergab sich jedoch eine so grosse Anzahl von Publicationen, die uns hier näher interessiren, dass wir sie wohl besser in mehrere Gruppen eintheilen und uns blos innerhalb von diesen an die chronologische Reihenfolge halten. Blos der Vollständigkeit wegen mussten manche Mittheilungen mit aufgezählt werden, die nur wenig oder gar nichts Neues enthalten, indessen solches zu geben beabsichtigen.

A. Vereinigung auf einen geringen Raum und Sortiren des Untersuchungsmaterials (zu §§ 19-21).

1837-38 Abgesehen von einzelnen Bemerkungen älterer Forscher, können wir Ehrenberg [1] 1837 als den ersten nennen, dem wir Mittheilungen über diesen Gegenstand verdanken; dieselben befinden sich mit ausführlicherer Schilderung der Methoden auch in seinem Hauptwerk [2] 1838 p. XV-XVII und wurden bereits wiederholt erwähnt: schwarzer und weisser Grund, einseitige Belichtung, Federpinsel, Glasröhrchen zum Aufsaugen [„Microsoter" von Morren] etc.

1846 Dagegen bezeichnet Hugo v. Mohl [1] 1846 p. 126 eine „an dem einen Ende in eine feine Spitze ausgezogene, am andern Ende mit einem umgebogenen Rande versehene Glasröhre, etwa von der Dicke einer Feder", als Pipette.

1856 Im Micrographic Dictionary (Griffith and Henfrey [1] 1856), dessen erste Hefte bereits 1854 erschienen, sind zum Herausfangen der Untersuchungsobjecte aus grösseren Gefässen mit Wasser einfache Glasröhren („dipping-tubes" p. XXI) empfohlen.

1875 L. Ranvier ([2] 1875-1882) führt 1875 (im ersten Hefte des Werkes) den Durchleuchter (photophore, in der deutschen Uebersetzung von Nicati und Wyss auf p. 66 Lichtträger) in die Mikrotechnik ein.

1877 Im Wesentlichen denselben Apparat beschreiben 1877 M. Lawdowsky [2] und sogar 1886 H. Obersteiner [2], welche Ranvier gar nicht erwähnen, letzterer unter dem Namen Schnittsucher.

1881 C. E. Hanaman [1] empfiehlt 1881 eine Flasche mit Seitenöffnung mit Musselin überzogen zum Sammeln von kleinen Organismen.

1882 H. Fol [4] 1882 leitet Kohlensäure in das Seewasser mit den Untersuchungsobjecten ein, um diese zu narcotisiren. — J. Levick [1]: Entfernung des überschüssigen Wassers aus dem Gefäss mit Pipette durch ein Sieb; Erniedrigung und Erhöhung der Temperatur, einseitige Belichtung etc. (Volvox, Amoeba).

1883 K. Möbius [1] 1883 lässt kleine Organismen sich von selbst an die Objectträger ansiedeln, welche er in das Wasser, wo sie leben, bringt.

1884 A. C. Mercer [1] betont 1884 die Vortheile einer oben uhrglasartig ausgehöhlten, unten ebenen Glasscheibe („Syracuse solid watchglass", eigentlich ein rundes Tuschnäpfchen von Glas) gegenüber den gewöhnlichen Uhrgläsern. (In der Zeit. Wiss. Mikr. II Bd. (1885) p. 278 wird diese Glasschale ganz mit Unrecht als ein „völlig unnützer Apparat" bezeichnet. Er ist für die Vorbehandlung — Sortiren, Reinigen etc. — des Untersuchungsmaterials

weit zweckmässiger, als sogar die früher meist gebrauchten Glasdosen; nur ziehen wir, wie auf p. 222 erwähnt, die viereckige Form vor.)

Die „Staining dish“ von C. S. MINOT [1] 1886 ist dasselbe, wie das „solid Watchglass“. — H. OBERSTEINER [2] 1886: der Schnittsucher, ein nur wenig modificirter RANVIER'scher „Photophore“. **1886**

A. ETERNOD [2] 1887 combinirt in einem Apparat „tournette microscopique a plusieurs fins“ einen Drehtisch, einen Durchleuchter, verschieden gefärbte Unterlage zum Präpariren und zwei Vierecke von der Grösse des Objectträgers mit Diagonalen in das Glas des Durchleuchters mit Diamant eingeritzt, zum leichteren Zurechtlegen des Präparates auf dem Objectträger. — L. GERLACH [1] theilt die Methode mit, ein Glasfenster „Embryoskop“ in der trepanirten Schale des Hühnereies anzubringen, damit man die ungestörte Entwickelung des Embryo in situ beobachten kann. — JULIUS ARNOLD [2]: die Methoden, um Leukocyten in grösserer Anzahl dem Froschleibe entnehmen und lebend beobachten zu können, welche auf p. 227 d. v. W. geschildert wurden. — EUGEN STEINACH [1] führt die „Siebdosen“ ein, Paare von ineinanderpassenden Glasdosen, von denen die innere einen durchlöcherten Boden besitzt und auf niedrigen Glasfüsschen im äusseren steht. Sie sind noch eher für die Behandlung von Schnitten, als zum Sortiren eines lebenden Materials geeignet; hierfür sind die Auftriebsiebe von CORI oder unsere Siebcylinder viel zweckmässiger. **1887**

Der Apparat von G. M. HOPKINS [1] 1891 zum Sammeln von mikroskopischem Untersuchungsmaterial, mehr für Amateure bestimmt, besteht aus einem Theelöffel, welcher über einem conischen Sack von Gaze befestigt ist; das Material wird, in unserem Fall z. B. von den Seitenwänden des Gefässes, mit dem Löffel abgekratzt und fällt in den Sack. **1891**

M. LITTEN [1] 1891, R. MUENCKE [1] 1892, G. GAERTNER [1] und W. THÖRNER [1] empfehlen verschiedene Centrifugen zum Sedimentiren des Untersuchungsmaterials; alle haben sich im Gebrauch bewährt und sind auch zum raschen Sortiren des Materials je nach der Schwere in manchen Fällen zu empfehlen. **1891-92**

C. J. CORI [1] 1893 beschreibt sein „Auftriebsieb“, welches wir bereits besprochen haben (p. 212). **1893**

F. SCHAUDINN [1] 1894 lässt Amöben sich auf dem Deckglas ansammeln, welches er über Nacht in das Seewasser-Aquarium, wo sie reichlich vorhanden sind, legt. **1894**

S. A. RYDER [1] 1895 schlägt vor, eine 30-50 μ dicke kleine Scheibe von Holundermark als Mikro-Filter zum Versammeln von mikroskopischen Organismen zu benutzen. Die Scheibe legt man auf eine Lage von Filtrirpapier und bringt nach einander einige Tropfen des Mediums mit dem Untersuchungsmaterial auf die obere Fläche der Scheibe. Das Wasser wird vom Filtrirpapier durch die Scheibe gesogen, und die Maschen des Holundermarkes halten Infusorien, Rotatorien und ähnliche Organismen zurück. Diese können nun sammt der Scheibe fixirt und weiter behandelt, aber in geeigneten Zellen auch lebend untersucht werden. **1895**

C. J. CORI [3] 1896 beschreibt eine besonders für die zoologische Technik bestimmte handliche Centrifuge, welche indessen weniger zum Sedimentiren **1896**

eines lebenden Materials geeignet sein soll, wogegen die GAERTNER'sche Kreisel-Centrifuge mir auch in dieser Hinsicht wiederholt Befriedigendes leistete.

1837-38 **B. Erhalten der Lebensbedingungen während der Untersuchung.** (Zelle, feuchte Kammer, Gaskammer etc.: zu §§ 22-25.)

Die alten Thierbüchsen wurden allmählich von TULLEY, GORING, VARLEY (1831) und POWELL (s. bei HARTING [1] Bd. III, p. 337-338) zwar verbessert und auch für stärkere Vergrösserungen zugänglich gemacht, aber gerade dadurch überflüssig, und so wollen wir auch hier mit den Methoden EHRENBERG's ([1] 1837 und [2] 1838) anfangen: Stützen des Deckglases durch Fadenalgen, Festhalten der Thiere durch noch nicht schädlichen Druck eines Compressoriums etc.

1842 Unter den Nebenapparaten eines grossen Mikroskops von JAMES SMITH [1] 1842 werden Zellen (Thierbüchsen) mit Deckel zum Aufschrauben, die zugleich als Compressorien wirken können, und ein kleiner aufrechter Glastrog beschrieben, welchen HARTING [1] (Bd. III, p. 346) den „senkrechten, schmalen Trog VARLEY's" nennt. Dieser damals, wie es scheint, in England bereits bekannter Apparat wurde von J. SMITH (p. 4, Figur u') dadurch verbessert, dass er darin ein diagonal gestelltes dünnes Glastäfelchen anbrachte, welches den Raum in eine nach oben und in eine nach unten verschmälerte keilförmige Hälfte theilt. Objecte, welche schwerer sind als das Untersuchungsmedium, sammeln sich in der letzteren, diejenigen, welche leichter sind, in der ersteren Hälfte hart an der Glaswand, welche entsprechend dem Beobachter zugekehrt werden kann, wie bereits auf p. 237 erwähnt. Natürlich fehlen bei J. SMITH auch jene kleinen, verstellbaren Zangen bereits aus LEEUWENHOEK'schen Zeiten nicht, welche zum Festhalten von Trockenobjecten im Gesichtsfeld dienten und von englischen Mikrographen bis auf die neueste Zeit gebraucht wurden (s. bei CARPENTER [2], eigentlich W. H. DALLINGER 1891 p. 287: stage-forceps, stage-vice etc.). — Im Micr. Journ. ist 1842 auf p. 370 das Recept jenes Fisch- oder Seeleims „new marine glue" zuerst veröffentlicht, dessen sich die Engländer mit Vorliebe zum Zusammenkitten von Glaszellen und dergl. bedienen (s. weiter unten im Capitel über den Verschluss des Präparates).

1841-44 OSCHATZ [1] 1841, [2] 1842, [3] 1843 und [4] 1844 schlägt verschiedene Arten von Zellen vor, so von Holundermark, Papier, einem Gemisch von Siegellack und Bleiweiss, etc.

Bei Aufzählung der besonders von englischen Mikrographen benützten verschiedenen Halter für lebende Objecte (p. 123-125) bezeichnet H. von

1846 MOHL [1] 1846 den „federnden Flaschenhalter, um Wasserthiere, Wasserpflanzen u. s. w. unter Wasser zu beobachten", und die „schwarzgefütterte Büchse (black ground box)" als vollkommen überflüssig; über den „Wassertrog", die „Büchse für Wasserinsecten (aquatic live-box)" und die „federnde Pincette" fällt er kein Urtheil.

1853 BEALE [8] 1853: Verfertigung der Glasringe für seichte und von viereckigen Glasrahmen (Glasstreifen in der Flamme dreimal rechtwinkelig gebogen) für tiefere Zellen.

1854 GRIFFITH und HENFREY [1] erwähnen in der bereits 1854 erschienenen Einleitung der ersten Auflage des Micrographic Dictionary von 1856 eine

nicht näher beschriebene Zelle als „live-box“ und schildern vielleicht den ersten für Circulation des Untersuchungsmediums eingerichteten Objectträger und nennen ihn (p. XX) growing-slide: Fäden von Lampendocht leiten die Flüssigkeit aus einem kleinen Reservoir auf der Glasplatte zum Auflegen des eigentlichen Objectträgers unter den Rand des Deckgläschens.

HERM. WELCKER [3] empfiehlt 1856, kleine Wachsfüsschen an den Ecken des Deckglases anzubringen, um es beim Auflegen zu stützen (p. 10); zu demselben Zweck lässt er das geschmolzene Wachs eines erwärmten, nicht brennenden dünnen Wachsstockes, mit welchem er einen Rahmen wie mit einem Pinsel zieht, unter das Deckglas vordringen. Er findet (p. 11) diese Stütze einfacher und bequemer als „die kostspieligen „glass cells“ der Engländer“ und die „Lackrahmen von OSCHATZ und SCHACHT“. (Der OSCHATZ'sche Kitt besteht nach ihm aus Bleiweiss und Copalfirniss; er findet übrigens — p. 9 — den „Asphaltfirniss“ bequemer. (S. auch weiter unten im Capitel über Verschluss und Umrandung des Präparates.) **1856**

W. R. MILNER [1] 1859: ein kleiner Trog zum Demonstriren der Blutcirculation im Schwanze von Fischen, den T. WALKER erfunden hat. **1859**

H. SCHACHT [2] 1862[1]) bringt, um einen constanten Wasserstrom unter dem Deckglase zu unterhalten, nicht nur einen zuführenden, sondern auch einen abführenden Baumwollenfaden an. Als Reservoir für den zuführenden Faden benutzt er ein kleines Schälchen „neben dem Objecttisch und in gleicher Höhe mit demselben“ (p. 78). — C. GERSTENBERGER [1] legt ein Stückchen ganz feinen Tüll oder Spitzengrund auf den Wassertropfen mit Infusorien und dergleichen am Objectträger und darauf das Deckgläschen, wodurch die einzelnen Maschen die „Infusorienteiche“ bilden, welche die Thierchen verhindern, sich aus dem Gesichtsfeld zu entfernen. **1862**

Demselben Zwecke will JOS. DAVISON [1] 1863 dadurch dienen, dass er so kleine Glaszellen (aus Glasröhrenstückchen von 3/16″ Durchmesser und 1/8″ Länge) verfertigt, welche gerade das Gesichtsfeld eines schwachen Objectivs einnehmen. — F. v. RECKLINGHAUSEN [3] beschreibt (p. 162) die erste feuchte Kammer im engeren Sinne (s. p. 242-243 d. v. W.) und giebt dadurch für die deutschen Mikrographen die erste Anregung zur Vervollkommnung dieser Einrichtung. — Der „simple Trough for Zoophytes etc.“ von G. GUYON [1] ist ein gewöhnlicher Objectträger, welcher durch Aufkitten eines aus einem andern Objectträger ausgeschnittenen ⊔förmigen Stückes und darauf eines Deckglases zu einem flachen VARLEY'schen Trog umgestaltet wird und die Flüssigkeit durch Capillar-Attraction auch in horizontaler Lage zurückhält. (Das „Mikroaquarium“ von FR. SCHAUDINN [1] 1894 ist im Wesentlichen dasselbe, jedoch etwas vollkommener.) **1863**

W. KÜHNE [4] 1864 führt die Methode der Untersuchung im hangenden Tropfen in die Mikrotechnik ein. Die Vorrichtung, welche er dazu benutzte, wird auf p. 209 in der folgenden Weise beschrieben: „Zu dem Ende“ — **1864**

---

[1]) Die erste Auflage des Mikroskops von SCHACHT [1] 1851 kenne ich blos aus einem ziemlich ausführlichen Referat im Q. Journ. Micr. Sc. (1) vol. I (1853) p. 46-51. Hier ist diese Methode nicht erwähnt. Die zweite Auflage von 1855 kenne ich überhaupt nicht, weiss also nicht, ob die Methode von SCHACHT oder der „growing-slide“ des Micr. Dict. älter ist.

nämlich um den Druck des Deckglases auf die lebende, noch zuckende Muskelfaser, deren Nervenendhügel untersucht werden soll, zu vermeiden — „setzt man auf die Cylinderblendung des Mikroskops, nach Entfernung des feineren Diaphragma, ein fast bis zum Boden abgesprengtes, enges Becherglas, dessen abgeschliffener Rand mit einem sehr grossen Deckglase bedeckt wird. Auf den Boden des Gläschens wird zur Sättigung des eingeschlossenen Raumes mit Wasserdampf, etwas Wasser gegossen, hierauf das Präparat in einer Spur von Serum auf der unteren Fläche des Deckglases ausgebreitet, und dieses mit der reinen Fläche nach oben als Deckel auf das Glasschälchen gelegt." Dieser Vorrichtung gab BOETTCHER zwei Jahre später (s. weiter unten) die heute noch gebräuchliche Form (vergl. p. 244 d. v. W.), welche eigentlich mit mehr Recht die BOETTCHER'sche Kammer genannt werden kann, da blos das Princip davon von KÜHNE stammt.

1865 Ebenfalls W. KÜHNE [3] schildert 1865 die Anwendung von „Gaskammern", welche GEISSLER verfertigte. (Solche machte GEISSLER bereits etwas früher [im Frühling von 1865] auch nach Angaben von RECKLINGHAUSEN. S. KÜHNE [5] 1878.) Diese von RECKLINGHAUSEN erfundenen GEISSLER'schen feuchten Kammern, welche früher sehr viel zur Untersuchung von Flüssigkeiten mit suspendirten Elementen (Blut etc.) benutzt wurden, bestehen aus einer Glasröhre, deren Mitte sich zu einer Scheibe erweitert. In der Mitte ist die Scheibe von beiden Seiten bis auf einen capillaren Zwischenraum dellenartig eingedrückt, und hier ist das Glas blos von der Dicke eines Deckglases. Die Röhre wird mit der Flüssigkeit vollgesogen, und, wenn man diese wieder herausfliessen lässt, so bleibt im Centrum der Scheibe eine dünne Schichte zurück, welche zur Untersuchung dient und auf welche man die Einwirkung von Gasen, die durch die Röhre geleitet werden, beobachten kann. Die Form, welche diesen Kammern KÜHNE geben liess, „die feuchte Gaskammer", ist etwas anders. Zwischen der *flachen* Boden- und Deckelfläche des scheibenförmigen Theiles des Rohres ist ein mehrere Millimeter hoher Raum, und der zu untersuchende Tropfen kommt auf die Unterfläche der Deckelwand, ein Wassertropfen, welcher den Raum mit Wasserdampf sättigt, auf den Boden. Sie werden mit einer fein ausgezogenen Pipette dorthin gebracht (p. 428). — RICH. BECK [1]: eine neue Zelle für lebende Objecte „live trap". Ein interessantes Beispiel dafür, wie complicirte Einrichtungen in England für Zwecke, die wir heute mit den einfachsten Mitteln erreichen und die man am Continente auch damals schon so erreichte, ausfindig gemacht wurden und zum Theil bis heute benutzt werden. — H. L. SMITH [1] führt eine neue Methode zum Ersetzen der verdunstenden Flüssigkeit unter dem Deckglase ein, nämlich das Emporsteigenlassen der Flüssigkeit aus einem Reservoir, ein viereckiges, flaches Glaskästchen, welches zugleich den Objectträger bildet, infolge von Capillarität durch ein kleines Loch.

1866 M. SCHULTZE [10] 1866 schildert und empfiehlt diese Art Objectträger (growing slide) auch deutschen Forschern (p. 160-161). — A. BOETTCHER [4] unterzieht die Methode des hangenden Tropfens einer sehr treffenden und eingehenden Kritik[1] und schlägt die sogenannte KÜHNE-BOETTCHER'sche,

---

[1]) Die Kritik BOETTCHER's bezieht sich übrigens nicht nur auf die feuchte

richtiger nur BOETTCHER'sche Kammer vor. Dieselbe wird dadurch, dass man den Glasring unten an zwei entgegengesetzten Punkten durchbohrt und hier die ein- und ausführende Glasröhre einkittet, zur Gaskammer umgestaltet. — R. BECK [2] rühmt das Princip der H. L. SMITH'schen Einrichtung sehr, will sie aber verbessern und macht dabei eine unnöthig complicirte „improved growing cell" mit Metallplatte und Schraubendeckel. — Etwas praktischer ist die Vorrichtung von J. C. LERMER [1]. Er lässt einen 1½ mm tiefen Einschliff von 15 mm Durchmesser im 3 mm dicken Objectträger als Reservoir dienen. Neben diesem liegt nämlich das Object von einem Deckglas bedeckt, dessen Rand etwa 5 mm über das Reservoir hinreicht. Ist letzteres beim Auflegen des Deckglases überschüssig gefüllt, so wird die Flüssigkeit darin und unter dem Deckglas in Communication treten und hier das Eintrocknen des Objectes verhindern. Andrerseits kann ein kleines Niveaugefäss neben dem Mikroskop das Reservoir constant mit Flüssigkeit versehen. — FR. EILH. SCHULZE [2]: sein Objectträger für lebende Froschlarven.

1867

S. STRICKER [3] 1867 setzt die Nachtheile der Beobachtung mit der GEISSLER'schen Gaskammer auseinander und empfiehlt jene Form, welche im Wesentlichen bei den besten späteren Gaskammern beibehalten wurde und welche auch die spätere RANVIER'sche Zelle sammt einem elektrischen Objectträger in sich vereinigt. — Andere Gaskammern beschreiben noch 1867 D. HUISINGA [1] und TH. W. ENGELMANN [1][1]. — JOHN BARKER [1] schildert, nach einer sehr treffenden Auseinandersetzung der Anforderungen, welche an ähnliche Apparate gestellt werden müssen, „a new microscopic growing stage", eine Circulationseinrichtung, welche am besten schief (nicht horizontal!) gestellt

---

Kammer für den hangenden Tropfen, sondern auf feuchte Kammern überhaupt. Er weist durch zahlreiche Beobachtungen nach, dass in der Anwendung der von RECKLINGHAUSEN, KÜHNE und ihm selbst vorgeschlagenen feuchten Kammern noch keineswegs das Mittel gefunden ist, um die natürlichen Lebensbedingungen des Objectes zu erhalten. Ein Druck auf dasselbe ist in den Kammern zwar ausgeschlossen, was übrigens durch einfaches Stützen des Deckglases ebenso gut geschehen kann; aber die von Wasserdampf allmählich übersättigte Atmosphäre der Kammer wirkt genau wie destillirtes Wasser auf das Object, ruft also Erscheinungen hervor, welche nichts mit dem Leben zu thun haben. Daran, dass diese Fehlerquelle sehr leicht zum grössten Theil beseitigt werden kann einfach dadurch, dass man den feuchten Raum möglichst klein und den hangenden Tropfen, so weit es die Untersuchbarkeit gestattet, lieber etwas grösser als zu klein nimmt, und höchstens eine minimale Menge fremden Wassers in den Raum bringt, scheint BOETTCHER nicht gedacht zu haben. Die Kammern, mit welchen er arbeitete, sind, nach seinen Angaben und der Abbildung auf p. 122 zu urtheilen, viel zu gross gewesen.

[1]) In beiden geschieht die Untersuchung im hangenden Tropfen auf dem Deckgläschen. Die ENGELMANN'sche Kammer (p. 657) ist ein Messingkästchen mit gläsernem Boden, Ausschnitt an der Decke für das Deckglas und seitlichen Oeffnungen zum Ein- und Ausleiten des Gases. Die von HUISINGA (p. 675) ist ein dadurch entstandener Glasring mit einem Zu- und Ableitungsröhrchen, dass man die Mitte einer Glasröhre kugelig aufbläst und dann oben und unten ein Segment von der Kugelwand abschleift.

werden muss und das Wasser durch einen dünnen Streifen von Talk vom Reservoirgefäss zu dem Deckglasrande leitet. Das Reservoirgefäss ist ein kleines, flaches Fläschchen, welches liegend rechts auf die Glasplatte, die den eigentlichen Objectträger zu tragen hat, gekittet ist. In die nach oben gekehrte Wand des Fläschchens sind zwei kleine Löcher gebohrt, das eine höher und dieses dient zum Hineinlassen von Luft, das andere näher zum Boden des Fläschchens, und auf dieses wird der Talkstreifen gelegt. Das andere Ende des Talkstreifens berührt oben eine Ecke des Deckgläschens, welches ohne Umrandung (vielleicht wohl gestützt?) auf dem Objecte liegt. — — J. Cohnheim [3]: Technik der Untersuchung der Blutcirculation im Froschmesenterium. Curarisirung des Versuchsthieres (p. 26). — Derselbe [4]: Weiteres zu dieser Technik (p. 222: Schwimmhaut des Frosches).

1868 Thom. Curteis [1] 1868: „Slide-cell" (Eingeschliffene Vertiefung im Objectträger und ganz unnütze Vorrichtung zum Drehen des Deckglases). — Balbiani [1]: Objectträger zum Studium der Entwickelung mikroskopischer Organismen (p. 568).

1869 C. J. Müller [1] 1869: Eine zwecklose Anwendung des Princips der H. L. Smith'schen Kammer. — J. W. Meacher [1]: ein „Live-Box". — W. P. Marshall [1]: eine gewöhnliche Zelle, zur Hälfte mit einem aufgekitteten Deckglas bedeckt, ist sein „small zoophyte trough". — W. Beavan Lewis [1]: Kautschuk für Zellen. — 1869 sind die ersten Hefte des Stricker-schen Handbuches, namentlich die „Allgemeine Methodik" von Stricker [2] selbst erschienen. Er macht darauf aufmerksam (p. VI), dass man den Raum für die Luft in der feuchten Kammer so gering als nur möglich machen soll und, so lange es geht, besser mit einer einfachen Oelzelle arbeitet. In dieser kann auch ein Wechsel der Flüssigkeit erreicht werden, wenn man zwei entgegengesetzte Seiten des Deckglases nicht beölt und an die eine Stelle des Deckglasrandes einen Streifen Filtrirpapier mit scharfgeschnittenem Rande anpasst und an die andere die Flüssigkeit „durch Röhrchen mit ausgezogener Spitze" tropfenweise anbringt (wie es später auch andere, neuerdings L. Rhumbler [1] 1888, vorschlugen). Eine andere Zelle Stricker's besteht aus einem Ringwall von Glaserkitt, worauf das Deckglas mit dem hangenden Tropfen, so lange der Kitt noch weich, aufzupressen ist. Sie kann einfach dadurch zu einer Gaskammer umgestaltet werden, dass man in den noch weichen Wall an zwei entgegengesetzten Punkten feine Glasröhrchen einlegt. Auf p. IX (Fig. III) wird auch eine complicirtere Gaskammer mit Quecksilberverschluss geschildert.

1870 T. W. Wonfor [1] 1870: Messingringe für Zellen. — R. L. Maddox [1]: Zelle zum Cultiviren von Pilzen aus zwei verschieden grossen ⊔förmigen Stanniolstücken, von welchen das grössere auf den Objectträger gekittet, und das kleinere mit der Oeffnung nach innen zwischen die Schenkeln des grösseren gelegt wird, ohne diese zu berühren, wodurch Luft zu dem in der Mitte liegenden Object gelangen kann. Das Deckglas entspricht den Dimensionen des grösseren Stanniolstückes; das Untersuchungsmedium darf auch mit dem kleineren nicht in Berührung kommen. Wenn nicht untersucht, muss die Zelle mit dem Object in einem feuchten Raum aufbewahrt werden (p. 15). — Eine ähnliche Zelle, blos aus zwei Kreisbogen, die mit Asphaltfirniss auf

den Objectträger gezeichnet werden, empfiehlt auch T. R. LEWIS [1]. — R. CATON [1]: Methode der Untersuchung der Blutcirculation.

1871 R. L. MADDOX [3] 1871: eine Modification seiner erwähnten Zelle für Luftzutritt (p. 45-46). — E. RAY Lankester [1]: Gaskammer, Typus BOETTCHER, aber mit drei Leitungsröhren. — W. ZAHN [1]: luftdichte Gaskammer nach Angabe von KLEBS.

1872 H. L. SMITH [2] 1872 macht Frösche, von denen er die Blutcirculation, besonders vom hervorgezogenen und auf der mit Kork belegten Froschplatte festgesteckten Mesenterium, untersuchen will, dadurch bewegungslos, dass er sie in warmes Wasser legt, dessen Temperatur von der Hand noch gut ausgehalten wird. (Bei RANVIER [2 a] p. 48 wird dieses Verfahren 1875 als das von BERNARD erwähnt.) — HUNT [1]: ein von D. S. HOLMAN erfundener Objectträger für Infusorien dergl. (Ein Kugelausschliff, und um diesen herum eine seichtere Rinne am Objectträger, hat keine grössere Bedeutung; wird indessen von Händlern mikroskopischer Utensilien in verschiedenen Variationen heute noch geführt.

1873 D. S. HOLMAN [1] erfand 1873 einen Objectträger für Blut und ähnliche Flüssigkeiten mit suspendirten Elementen, dessen besonderer Zweck das Hervorrufen von Bewegungen jener Elemente unter dem Mikroskop ist (s. auch weiter unten). Ein dickerer Objectträger ist rechts und links von der Mitte mit zwei rundlichen, eingeschliffenen Vertiefungen versehen, welche mit einander durch ein oder zwei seichte Kanäle verbunden sind. Der senkrechte Querschnitt der Kanäle ist ein rechtwinkeliges Dreieck, dessen eine Kathete viel länger ist als die andere, welche auf die Objectträgerfläche (also auch auf das Deckglas) vertical steht. Somit bildet die Hypothenuse des Dreiecks einen möglichst geringen Winkel mit dem Deckglase, welches beide Vertiefungen und die Verbindungskanäle gleichzeitig überdecken soll. Gruben und Kanäle müssen sorgfältig polirte Flächen haben. In beide Gruben kommt etwas von der zu untersuchenden Flüssigkeit, indessen nur so viel, dass beim Bedecken mit dem Deckglase in beiden eine grosse Luftblase bleibt, welche von der Flüssigkeit ringförmig umgeben ist. Die zwei Ringe von Flüssigkeit communiciren mit einander durch die seichten Kanäle. Eingestellt wird das Mikroskop auf die in diesen Kanälen befindliche Flüssigkeit, von welcher infolge des sehr spitzen Winkels, den der Boden des Kanals (die Hypothenuse des Dreiecks) mit dem Deckglas bildet, eine beliebig dünne Schicht untersucht werden kann. Wenn man nun den Objectträger vor dem Auflegen des Deckglases etwas (z. B. mit der Hand) erwärmt hat, dann zieht sich die Luftblase nach dem Auflegen des Deckglases beim Sinken der Temperatur etwas zusammen, und das Deckglas wird durch den Luftdruck so auf den Objectträger gepresst, dass es sich nicht so leicht verschieben lässt. Um einen beliebig starken Strom in den Kanälen in der einen oder der anderen Richtung hervorzurufen, braucht man blos den Finger (oder irgend einen warmen Gegenstand) der einen Luftblase zu nähern; dadurch dehnt sich diese etwas aus und treibt die Flüssigkeit im Kanal gegen die andere Vertiefung des Objectträgers.

1874 L. GRIFFINI [1] 1874: Kulturzelle. — H. W. DALLINGER und J. DRYSDALE [1] beschreiben (p. 97-99, Taf. III) die feuchte Kammer die sie bei ihren Untersuchungen über Monaden benützten. Das Object liegt bedeckt

vom Deckglas auf dem Boden der Kammer, welche aus einem hohen und weiten Glasring (3/4″ auf 1 1/2″) besteht, dessen obere Oeffnung mit einer dünnen Kautschukmembran überspannt ist. In der Mitte der Membran befindet sich ein kleines Loch, durch welches die Spitze des Objectivs beim Einstellen durchdringen kann. Auf dem Objectträger liegt, zum Theil den Boden der Kammer bedeckend, ein Blatt Löschpapier mit einem runden Ausschnitt für das Object, welches mit einem kleineren Deckglas als der Ausschnitt des Papiers bedeckt werden muss. Nach links geht das Papier in einen schmäleren, längeren Streifen über, welcher in das Reservoirgefäss hineinhängt. Letzteres ist ein in einen Metallring auf dem Objecttisch (welcher hier gleichzeitig Objectträger ist) hineingesteckter kleiner Glascylinder mit etwas erweitertem Mund, damit er durch den Ring zurückgehalten werde. Diese Vorrichtung wurde von späteren englischen Mikrographen sehr gerühmt und vielleicht auch benutzt, so von W. Saville Kent [1] 1880 (I. Bd. p. 116).

1875 R. Thoma [3] 1875: Objectträger zur Untersuchung der Blutcirculation in der Froschzunge unter Irrigation mit Kochsalzlösungen. — Frithiof Holmgrén [1]: Apparat zur Beobachtung des Kreislaufes in der Froschlunge (s. p. 239 d. v. W.). — L. Ranvier schildert 1875 (im ersten Hefte des „Traité technique" [2]) seine feuchte Kammer (die Ranvier'sche Zelle: s. p. 245). Nach seiner Vorschrift verfertigt man sie sich selbst in der Weise, dass man auf einen gewöhnlichen Objectträger aus Glasstreifen einen viereckigen Rahmen zusammenkittet und innerhalb dieses Rahmens ein viereckiges Stück Glas aufkittet, welches, etwa um 1/10 mm niedriger als der Rahmen, den so von einer Rinne umgebenen Pfeiler bildet, worauf das zu untersuchende Object gelegt wird. Das Deckglas wird vom Rahmen getragen und kann keinen Druck auf die zu untersuchenden Elemente ausüben. (Bei der gegenwärtig meist gebrauchten käuflichen Form dieser Objectträger ist eine Ringfurche in den Objectträger selbst hineingeschliffen und von dem centralen Pfeiler das Nöthige abgeschliffen.) — Ranvier giebt auch eine im Wesentlichen der Stricker'schen ähnliche Gaskammer an.

1876 Die feuchten Kammern von Ludwig, Geissler, de Bary, Klebs und D. S. Holman auf der Londoner internationalen Ausstellung 1876 s. bei A. W. Hofmann [1] p. 654 (referirt von Ferd. Cohn).

1877 A. H. Reeves [1] 1877: eine Kulturkammer.

1878 Ed. Strasburger [1] macht 1878 eine ventilirte feuchte Kammer (p. 5) einfach in der Weise, dass er einen kleinen mit Wasser getränkten „Papprahmen" auf den Objectträger legt. Diesem Rahmen wird das Deckglas mit dem suspendirten Tropfen aufgelegt, wo sich Spirogyren Tage lang gesund erhalten (vergl. die auf p. 248 d. v. W. vorgeschlagene Verwerthung dieser Idee). — W. Kühne [5] wahrt die Priorität Recklingshausen's in der Erfindung der „feuchten Gaskammern" (der Geissler'schen capillaren Form) gegen Pasteur, welcher ihre Einführung sich selbst zu vindiciren schien (in einer Schrift von 1876).

1879 L. Malassez [1] 1879: eine graduirte feuchte Kammer von, für morphologische Arbeiten wenigstens, zweckloser Complicirtheit. — C. Hueter [1]: ein Apparat zur Beobachtung des Kreislaufes in Schleimhäuten des Menschen. — J. M. Prudden [2]: Vorrichtung zur Untersuchung des Episternumknorpels

vom lebenden Frosch. — EMIL SELENKA [1]: seine feuchte Kammer (s. p. 244 d. v. W.).

L. VON THANHOFFER [1] 1880 beschreibt auf p. 85 (Fig. 49a) die RANVIER'sche Zelle ohne RANVIER dabei zu nennen und behauptet, sie bereits 1872 benutzt zu haben. Figur 49b ebendort ist eine unnöthige kleine Modification jener Zelle. — J. DEBY [1]: eine modificirte H. L. SMITH'sche Kammer (s. p. 247 d. v. W.), wo das Behältniss für das Wasser der capillare Raum zwischen zwei auf einander gelegten Objectträgern ist. — T. BOLTON [1]: breitet um den Tropfen mit den Beobachtungsobjecten ringförmig etwas Baumwolle aus, welche das Deckglas stützt (s. p. 232 d. v. W.). — J. A. RYDER [1]: feuchte Kammer zugleich Compressorium (nichts Neues). — JAMES EDMUNDS [1]: eine modificirte RANVIER'sche Gaskammer mit anders verlaufenden Zu- und Ableitungsröhren und parabolisch geschliffenen, polirten Seitenflächen des centralen Pfeilers (für Dunkelfeldbeleuchtung: s. weiter unten). — NACHET [1]: feuchte Kammer und Gaskammer, welche NACHET für sein chemisches Mikroskop liefert. — G. M. STERNBERG [1]: Kulturzelle besonders für Bacterien (ein ganz überflüssiger Apparat). — Auch BOTTERILL's [1] „Live-Trough" ist eher ein Rückschritt in der Technik der Untersuchung lebender Wesen. Er kehrt wieder zu Messingplatten und Schrauben zurück. — Ebenfalls schon alt waren die „Thin Glass Troughs", welche 1880 im Amer. Naturalist beschrieben wurden (vergl. G. GUYON [1] 1863). — W. SAVILLE-KENT [1] bediente sich bei seinen Beobachtungen für seine grosse Monographie der Infusorien vorzugsweise der Vorrichtung DALLINGER-DRYSDALE [1] 1874 und rühmt sie sehr. 1880

T. CH. WHITE [1] 1881: die RANVIER'sche Zelle noch einmal erfunden. — J. A. RYDER beschreibt eine feuchte Kammer (zugleich Compressorium) und eine Gaskammer von D. S. HOLMAN ohne besondere Bedeutung (siehe im Literaturverzeichniss unter (HOLMAN D. S.) [2]). — Ebenfalls im Journ. R. Micr. Soc. ist 1881 (p. 526) auch ein überflüssiger „Insect-cage" für lebendige Insecten beschrieben. — Unnöthig ist weiter der „life-slide" BOTTERILL's [2], welcher jetzt [3] seinen „life-trough" anstatt von Messing wenigstens aus dicken Glasplatten verfertigen lässt. — Ebensowenig entsprechen das Vivarium von HARDY [1] (dazu noch sehr unpraktisch) und der „zoophyte Trough" von H. J. FASE [1] irgend einem Bedürfniss. — N. PRINGSHEIM [1]: eine bei photochemischen Untersuchungen auch mit Eis kühlbare Gaskammer, für gewisse specielle Zwecke sehr gut, aber im Allgemeinen nicht nothwendig. — 1881 will noch J. DEBY [2] seine im vorigen Jahre beschriebene feuchte Kammer vereinfachen, was ihm indessen nur zum Theil gelingt, da er die bei der Untersuchung sehr störenden Gummibänder, welche die zwei Objectträger verbinden, beibehält. — Im „growing slide" von H. W. WIGHT [1] ist nichts Neues (Zufuhr der Flüssigkeit durch Wollenfasern, welche in das Reservoirgefäss hineinhängen). — Im Amer. Month. Micr. Journal (vol. II, p. 35) wird nach dem Journ. de Photographie et de Micr. die STRICKER'sche Zelle aus Glaserkitt unter dem Namen STRASBURGER's neu beschrieben (s. unter (STRASBURGER) [2]). — HANSEN [1] empfiehlt eine Gaskammer, welche die Vortheile der BOETTCHER'schen und der RANVIER'schen Gaskammern in sich vereinigen soll. 1881

1882 beschreibt E. L. J. SHURLEY [1] eine Gaskammer für starke Vergrösserungen. — C. THOMAS [1]: ein modificirtes Vivarium nach HARDY [1]; 1882

welches ebenfalls stärkere Vergrösserungen zulassen soll. — W. K. KENT [1]: Kammer für Trockenobjecte. — Während dessen die „neue" Circulationskammer von T. CHARTERS WHITE [2] eine zwecklose Modification des VARLEY-schen Troges mit zu- und ableitendem Wollfaden, und A. W. STOKES's [1] „Tadpole-slide" ein Objectträger für Froschlarven ist, der den F. E. SCHULZE-schen an Zweckmässigkeit nicht erreicht: führt endlich ein Artikel des Amer. Month. Micr. Journ. (vol. III, p. 222: Examining and Exhibition of Living organismes) die einfachste Methode der Versorgung des Objectes mit frischer Luft auch in die englisch-amerikanische Mikrotechnik ein: das Einlegen von rasch wachsenden Algen mit den thierischen Organismen in die luftdicht schliessende Kammer (Paraffinzelle). — K. HÄLLSTÉN [1] beschreibt eine von JOHNSON erdachte Methode zur Untersuchung der Circulation in der Froschharnblase mit dem HOLMGRÉN'schen Apparate.

1883 — 1883 schildert W. PREYER [1] eine Einrichtung zur Untersuchung embryonaler Bewegungen im ungeöffneten Vogelei (Embryoskop). — R. L. MADDOX [3]: mehrere erwärmbare feuchte Kammern, von welchen er (p. 131) selbst zugiebt, dass nur wenig Neues an ihnen ist. — CATON [2]: ein Fischtrog. R. HITCHCOCK [1]: feuchte Kammer. — H. J. SLACK [1]: „Tubular Live-box", besonders zur Untersuchung der Mundtheile von grösseren Insecten. — W. BEHRENS [2] verwerthet die STRASBURGER'sche Idee in Betreff einer einfachen, ventilirten feuchten Kammer in der folgenden Weise (p. 203): „Man schneidet aus gewöhnlicher gelber, starkfaseriger Pappe einige Rahmen, die in der Mitte einen Ausschnitt besitzen, welcher etwas kleiner ist, als das Deckgläschen . . . . . Die Pappestückchen werden in ein Schälchen mit Wasser gelegt; nachdem sie sich ganz vollgesogen haben, lässt man sie abtropfen und schichtet zwei bis drei derselben lose auf einen nicht zu kleinen Objectträger . . . . über einander. Dann bringt man an das Deckgläschen einen hängenden Tropfen und legt dasselbe über die mittlere Oeffnung der Rahmen". BEHRENS hat in einem solchen frei liegenden Apparat einen hangenden Tropfen vierzehn Tage lang unverändert erhalten, indem er jeden Abend mit der Spritzflasche einen Tropfen Wasser seitlich an die Pappenrahmen brachte.

1884 — Aus 1884 ist die „growing cell" von A. C. STOKES [1] die Wiederholung der Zelle von MADDOX [1], blos aus Glasringen anstatt aus Staniolplatten verfertigt, der „Pillar-Slide" von R. J. NUNN [1] dagegen die reine RANVIER-sche Zelle; P. B. PARSON's [1] „current-slide" ist complicirt, die Zellen von A. D. MICHAEL [1] alte Vorschläge, neu aufgetischt. — P. FABRE-DOMERGUE [3]: eine Art Stufenobjectträger, aber aus Metall, mit Leitung durch Fäden.

1885 — 1885 begegnen wir der Beschreibung einer „Live-cell" von unbekanntem Autor im Journ. R. Micr. Soc. ([2] vol. V, p. 134-135, Fig. 20), einer solchen von G. M. GILES [1] (wieder Messing und Schrauben!), der „life-box" von J. E. WITHNEY [1] (eigentlich schon aus 1884, auch nicht ohne Messing), der feuchten Kammer von BOWER und VINES [1] (ist die von STRASBURGER), der „observatory-trough" von R. HAWKINS [1] (Ringe aus Messingdraht für Zellen, ein bereits alter Vorschlag), dem „growing-slide" von E. L. CHEESEMAN [1], den Zellen aus Stückchen eines Gummischlauches, neu vorgeschlagen von C. F. COX [1], also nichts Neuem. Der Umschalter für Gas- und Flüssigkeits-

ströme von E. Obach [1] dürfte in passender Form auch für unsere Zwecke anwendbar, indessen nur selten nothwendig sein.

1886 Das „Compressorium“ von K. Hälstén [2] 1886, welches den Zweck hat, das Beschlagen des Objectives mit Wassertropfen bei Untersuchungen ohne Deckglas zu verhüten, möchte Schiefferdecker (Zeit. Wiss. Mikr. IV. 1887, p. 477) mit Recht lieber „Tauchhülse“ nennen. Eigentlich ist es eine von englischen Mikrographen schon längst gebrauchte Vorrichtung, der sogenannte Protector oder gerader Stiefel von Goring [1] (1830 p. 55: Protector, direct boot; über den „diagonal boot“ s. weiter unten), den von den deutschen Mikrographen bereits H. von Mohl [1] 1846 (p. 125) erwähnt und abbildet. — L. Chabry [1]: eine Capillarröhre als Objectträger bei Untersuchung von lebenden kleinen Eiern. — C. G. Dunning [1] („zoophyte-cell“), D. S. Kellicott [1] (feuchte Kammer), J. M. Logan [1] („a new form of life-slide“) variiren und wiederholen alte Dinge. — J. D. Hardy's [2] „examining tank“ ist ein auf zwei verticalen Füssen befestigtes, verstellbares flaches Gefäss.

1887 Der „growing-slide“ von A. Pagan [1] 1887 ist einfach ein mit Filtrirpapier belegter Objectträger, welcher, wenn nicht untersucht, auf eine stufenförmige Holzbank, unter eine Tropfvorrichtung gestellt wird: ein höher gestelltes Reservoirgefäss mit zweimal rechtwinkelig gebogenem Capillarröhrchen, welches so weit mit Leinenfäden verstopft ist, dass es blos in den gewünschten Intervallen je einen Tropfen fallen lässt. Das Fliesspapier, welches die Flüssigkeit zu dem Object und vom Object wegleitet, wird mit der Zeit verstopft und muss erneut werden; und doch behauptet Pagan Voloxcolonien sechs Wochen lang lebend auf diesem Objectträger erhalten zu haben. — A. C. Stokes [3]: alte Schellack- und Glaszellen. — W. Fearnley [1] p. 195, Fig. 46: Froschhalter. — R. Macer [1]: Insectenhalter. — L. Chabry [2] setzt seine Methode der Untersuchung von kleinen Eiern in Capillarröhrchen weiter auseinander (p. 172, Figur 1 auf p. 174).

1888 Die Methoden von E. Maupas [1] 1888 bieten, obwohl nichts wesentlich Neues, doch grosses Interesse infolge der wichtigen Resultate, zu welchen sie bei Infusorien führten, da ja die Mikrotechnik dadurch, dass gezeigt wird, wie bekannte Methoden für gewisse Zwecke richtig anzuwenden sind, mehr als durch neue Methoden von problematischem Nutzen gewinnt. — Dasselbe gilt, wie aus dem Vergleich mit den bereits aufgezählten älteren Methoden hervorgeht, von der Methodik von L. Rhumbler [1] auf p. 550-555 mit Figur auf p. 554 (s. d. v. W. p. 248, 250-251). — Eine entschiedene Verbesserung der Pagan'schen Vorrichtung ist die von Selmar Schönfeld [1], bei welcher die Circulation auch während der Untersuchung selbst nicht unterbrochen werden muss. Sie ist im Princip besser, als die von Rhumbler, da bei ihr auch die alte Flüssigkeit weggeleitet wird und nicht blos das Wasser davon verdunstet; aber viel weniger handlich und an und für sich natürlich auch keineswegs neu. — Der „growing slide“ J. D. Hardy [3] ist eine für Ciculation eingerichtete „Thierbüchse“ aus alten Zeiten. — C. R. Beaumont [1] beschreibt eine Circulationskammer (reservoir life-slide), welche in mehreren Beziehungen vollkommener ist, als die früheren. Ein metallener Objectträger (warum nicht von Glas, können wir nicht einsehen) mit rundem Glaseinsatz in der Mitte als Boden der Zelle trägt an beiden Enden je ein Reservoir. Von jedem führt eine kleine Röhre in die

Zelle, welche aus einem inneren Metallring mit feinen Oeffnungen und einem äusseren, höheren Wall besteht. Der innere Ring trägt das Deckglas, der Hof zwischen dem inneren Ring und dem äusseren Wall ist von einem trichterförmigen Metalldach mit centraler Oeffnung über dem Deckglas überdeckt, und in diesen Hof mündet das zu- und ableitende Röhrchen. In das eine Reservoir wird Wasser gegossen und der Objectträger so auf den drehbaren Objecttisch des schräg umgelegten Mikroskopes gebracht, dass das gefüllte Reservoir höher zu stehen kommt. Das Wasser, welches die Zelle passirt hat, sammelt sich im niedriger liegenden Gefäss, und, wenn das obere sich entleert, so wird einfach der Objecttisch umgedreht, damit das nun gefüllte Reservoir höher zu liegen komme. Wenn man nicht beobachtet, so wird der Objectträger mit einem der Reservoire unter eine constante Tropfvorrichtung gestellt und, damit die Circulation nicht aufhöre, am anderen Reservoir eine Abflussvorrichtung angebracht. — ERNST FREUND [1] liefert einen wichtigen Beitrag zur Technik der Untersuchung des lebenden Blutes, dass nämlich das mit eingefetteter Canüle in eingefettetem Gefäss unter Oel aufgefangene Blut nicht gerinnt (p. 260).

1889 G. HAYEM [1] 1889 schildert in seinem grossen Werke über Blut natürlich auch die Methoden der Untersuchung des lebenden Blutes. — W. SCHEWIAKOFF [1] benützt, ebenso wie RHUMBLER und Andere vor ihm, stets die filtrirte Infusion selbst zum Erneuen der Flüssigkeit bei der Beobachtung der Infusorien und findet das mit Wachsfüsschen gestützte Deckglas die beste Zelle dazu. — JOHN AF KLERCKER [1]: die auf p. 250 d. v. W. besprochene Circulationsvorrichtung. — C. H. H. WALKER [1]: neues, grosses Format für alte Zellen; mit blos drei Seiten als senkrechte Tröge zu benützen.

1890 O. MAAS [1] 1890 empfiehlt für die Beobachtung der Entwickelung des Süsswasserschwammes ein auf einem Stativ befestigtes Deckglasaquarium von 1 cm Tiefe und 1 qdm Fläche, sonst wie J. D. HARDY's [2] „examining tank", welches er mit dem horizontal gestellten Mikroskop benutzt (p. 530). — FAYOD [1]: die sogenannte „cellule Fayod" ist eine Zelle, deren Seitenwand von einem flachen Kautschukring gebildet wird und dessen Theile durch den Druck eines Compressoriums von Metall zusammengehalten werden. Praktisch ist sie wohl für manche Zwecke, aber neu nicht, am wenigsten ist es die Verfertigung der Seitenwand der Zelle aus einem Kautschukring, wie L. KLEIN glaubt (Zeit. Wiss. Mikr. Bd. VII, p. 348). FAYOD benutzte solche Zellen 1890 erst seit zwei Jahren; ähnliche wurden von mehreren englischen Mikrographen bereits vor geraumer Zeit beschrieben. — Uebrigens empfiehlt auch J. ANDERSON SMITH [1] 1890 Kautschukringe für kleine Zellen als etwas Neues, jedenfalls ein Zeichen, dass solche Zellen damals wenigstens nicht in allgemeinem Gebrauch waren. — F. PLEHN [1] schliesst den Tropfen Blut, um es lebend zu beobachten, zwischen zwei Tropfen von Paraffinum liquidum ein, von welchen einer auf den Objectträger, der andere auf das Deckglas gelegt wird. Der aus der Fingerkuppe mittels Nadelstich entnommene Bluttropfen wird auf dem Paraffintropfen des Deckglases aufgefangen und das Deckglas mit dem Tropfen nach unten auf den Paraffintropfen am Objectträger gelegt. Wenn man mit den nöthigen Vorsichtsmassregeln verfährt und die normale Temperatur des Blutes constant erhält, so bleibt das Blut viele Stunden unverändert.

1891

Bei L. Pfeiffer [1] 1891 finden wir eine eingehende Beschreibung der Methoden zur Untersuchung der krankheiterregenden Protozoën (Malariaplasmodien, Coccidien etc.). Eine wichtige Rolle spielen dabei die Capillarculturen nach Danilewski (in Capillarröhren, die an einer Stelle plattgedrückt sind: eigentlich Geissler'sche Kammern in etwas veränderter Form). — G. M. Hopkins [1]: ein senkrechter seichter Trog von drei Glasstreifen auf dem Objectträger und dem auf diese gekitteten Deckglas gebildet, wie manche früheren. — Thomas S. Stevens [1]: Beobachtungsaquarium, Seitenwände aus einem ⊔förmig gekrümmten Kautschukstreifen.

1892

Die neu beschriebene Kulturkammer für den hangenden Tropfen von H. M. Ward [1] 1892 ist die Gaskammer von D. Huizinga [1] 1867 ohne irgend welche Aenderung, bei bacteriologischen Studien angewendet.

1893

C. J. Cori [2] 1893: „das Objecttischaquarium", eine bereits sehr alte Vorrichtung, wie aus Obigem hervorgeht (s. auch p. 237 d. v. W.). — J. E. Ingpen [1]: über den Marshall'schen Trog. — M. Ogata [1] hat, wie es scheint, erfolgreiche Versuche mit der Reincultur von Infusorien (Paramaecium aurelia und Polytoma uvella) gemacht. — A. Scherffel [1] beseitigt die unbequemen Gummibänder in der Vorrichtung von John af Klercker [1] und befestigt das Deckglas auf dem Objectträger mit zwei Tropfen Terpentinharz.

1894

Fritz Schaudinn [2] 1894 beschreibt ein „Mikroaquarium", welches aus dem Objectträger, von dem an der einen Langseite ein viereckiges Stück herausgeschnitten (mit der Schmirgelscheibe herausgeschliffen) ist, und zwei Deckgläsern besteht, die beiderseits auf den Einschnitt gekittet sind. Um den so entstandenen sehr schmalen Trog brauchen und von beiden Seiten beobachten zu können, müssen auf den Objectträger auf beiden Seiten je zwei Schutzleisten gekittet werden. Er kann auch horizontal auf den Objecttisch gelegt werden, ohne dass das Wasser herausfliessen würde. Diese Einrichtung hat vor älteren ähnlichen der englischen Mikrographen (wo die Seitenwände der Zelle aufgekittete Leisten von Glas sind) nur den Vortheil, dass man das Object von beiden Seiten mit gleich starken Vergrösserungen beobachten kann. — Charles Hill [1] steckte die aus der Eihülle entnommenen Fischembryonen, um sie lebend zu untersuchen, in Schlingen von feinem Kupferdraht, welche sie, indem sie den Dottersack etwas zusammenschnüren, festhalten. Durch Biegung des Drahtes konnten die Embryonen in jeder Lage unter das Mikroskop gebracht werden (p. 238).

C. Erhalten des Objectes auf einer constanten Temperatur. Aenderung der Temperatur unter dem Mikroskop (zu §§ 26 und 28).

1852

Eine sehr alte und die primitivste Methode, um die Einwirkung der Wärme auf ein gegebenes Object unter dem Mikroskope selbst studiren zu können, ist wohl die von H. Schacht [2] p. 79 beschriebene, welche ihm „im Jahre 1852 von Herrn Martin aus Wien mitgetheilt" wurde. Ein knieförmig umgebogenes Wachskerzchen wird nach Entfernung des Blendungsapparates brennend unter das Loch im Objecttisch gehalten und die Objectplatte von unten her direct erwärmt; aber eine noch bedeutend früher veröffentlichte Methode ist die von C. A. S. Schultze [1] 1828, welcher sich zum Erwärmen des Objectes der zur Beleuchtung opaker Gegenstände den Mikroskopen beigegebenen Convexlinse als Brennglas bediente (p. 17).

1828

1839 Später gab CH. DE CHEVALIER [1] 1839 eine complicirtere Vorrichtung an, welche indessen blos bei einem umgekehrten Mikroskop anzuwenden war und trotz späterer Verbesserungen von LAWRENCE SMITH und NACHET (vgl. HARTING [1] II. Bd. p. 146) keine allgemeinere Verbreitung fand.

1863-65 J. SCHWEIGGER-SEIDEL [1] 1863 (p. 486) und A. ROLLET [2] 1864 benutzten einen gefensterten Streifen von Eisenblech, der an einer über den Objecttisch hinausragenden Seite erwärmt wurde. Die erste Methode jedoch, welche eine allgemeinere Verbreitung fand und durch welche die Mikrographen angespornt wurden, bald nachher eine Reihe von anderen ausfindig zu machen, ist das Erwärmen des Objecttisches nach MAX SCHULTZE [9] 1864 und [8] 1865.

1864 M. SCHULTZE [9] zeigte bereits am 8. Juni 1864 in der niederrheinischen Gesellschaft für Natur- und Heilkunde seinen heizbaren Objecttisch, welcher, mit der RECKLINGHAUSEN'schen feuchten Kammer combinirt, in erster Linie zur Untersuchung des Blutes von warmblütigen Thieren dienen soll, das bisher nie bei Körperwärme beobachtet wurde [1]). Der Apparat besteht „aus einem durch zwei Spirituslampen zu heizenden und mit einem Thermometer versehenen messingenen Tisch, welcher auf jedem Objecttisch eines Mikroskopes befestigt werden kann" (p. 358). — Der von ROLLET [2] unabhängig von M. SCHULTZE benutzte, aber später (am 14. Juli 1864) zuerst veröffentlichte heizbare Objecttisch ist ein auf dem Mikroskoptisch auf Korkunterlagen ruhender Streifen von Eisenblech, welcher an einer Seite den Mikroskoptisch überragt und hier durch eine Weingeistflamme erwärmt wird (p. 192). Mit einem Thermometer ist er nicht verbunden gewesen.

1865 Die erwärmbare, metallene Objectplatte von THOMÉ [1] 1865 ist wie die von ROLLET, blos ruht sie mit drei Metallspitzen auf dem Tisch des Mikroskopes. — MAX SCHULTZE [8] setzt die Art und Weise seiner Beobachtungen mit dem heizbaren Objecttisch ausführlich auseinander. Erwärmt werden durch kleine Spiritusflammen zwei seitliche und unter rechtem Winkel nach vorne umgebogene, 17-20 cm lange Fortsätze des Tisches. Bei M. SCHULTZE ist auf eine genaue Bestimmung des Temperaturgrades zuerst Rücksicht genommen, und zu diesem Zwecke ist das Thermometer, welches aus einem spiralgewundenen, die Blendungsöffnung umkreisenden Quecksilberbehälter besteht, unten an der Tischplatte angebracht. Die RECKLINGSHAUSEN'sche feuchte Kammer wird mit dem Tische bei Verwendung eines Deckglases combinirt. Trotzdem zeigte das Thermometer nicht immer genau auch die Temperatur des Objectes; es ging bald vor, bald nach, wie sich M. SCHULTZE [8] p. 7 ausdrückt, und das Verhältniss zwischen der wirklichen Temperatur des Objectes und der vom Thermometer gezeigten musste für jedes Instrument erst besonders festgestellt werden.

---

[1]) Die weissen Blutkörperchen „kriechen wie Ameisen" (ein Druckfehler, sollte „Amöben" stehen: vgl. M. SCHULTZE [8] p. 9, in der Anmerkung) „zwischen den rothen Blutkörperchen umher, nehmen bisher gänzlich unbekannte Formen an" etc. „. . . dem Blute beigemischte feine Carminkörnchen" werden „von den auf dem warmen Objecttisch herumkriechenden weissen Blutkörperchen in kurzer Zeit aufgenommen" etc. (p. 358). So werden die Resultate von Beobachtungen auf dem erwärmten Objecttisch gepriesen.

Dieser Umstand und, dass bei der SCHULTZE'schen Vorrichtung Schwankungen der Temperatur des Objectes um mehrere Grade sehr schwer zu vermeiden sind, waren ausser der ungenügenden Handlichkeit des Apparates, die hauptsächlichen Ursachen, weshalb man die Methode sehr bald zu verbessern suchte. 1867 führte ALEXIS SCHKLAREWSKI [1] die Methode des Erwärmens vom Objecttisch durch warmes Wasser, welches durch den Tisch geleitet wird, in die thierische Biologie ein; diese Methode hat sich auch später als die beste erwiesen und ist sogar bei den neuesten erwärmbaren Objectträgern im Wesentlichen in derselben Weise wie bei SCHKLAREWSKI angewandt. — Erst in demselben Jahre wurde bei NÄGELI und SCHWENDENER [1] (p. 466) der von NÄGELI bereits seit langer Zeit (seit 1849, s. bei VELTEN [1] p. 196) benutzte Wärmeapparat beschrieben, welcher ebenfalls auf Durchleiten von warmem Wasser durch den Objecttisch (hier gleichzeitig Objectträger) beruht. Das Object wurde in der Mitte der durchleitenden Röhre selbst in einer scheibenförmigen Erweiterung, die nach oben und unten durch parallele Glasplatten abgeschlossen war, befestigt. Die Idee, warmes Wasser als heizendes Princip zu benutzen, stammt also von C. NÄGELI [3] 1849. **1861**

1868 beschrieb A. SCHKLAREWSKI [2] seinen Apparat noch einmal und gab auch eine Abbildung davon. Der Objecttisch, ein 1 cm hoher messingener Kasten mit Oeffnung in der Mitte, steht durch zwei Röhren, einer höher und einer tiefer mündenden, mit dem luftdicht verschliessbaren cylindrischen Wasserbehälter in Verbindung, wo das Wasser durch eine Spirituslampe erwärmt wird. Behälter und Tisch werden vollgegossen. Das nun zu erwärmende Wasser strömt in der oberen Röhre in den Tisch, welches infolge eines Systems von Septen ganz durchkreist wird, ehe der erkaltende Strom durch die untere Röhre wieder in den Behälter zurückkehrt. Eine Ecke des Kastens ist verlängert und dient zur Aufnahme des Thermometers; eine andere Ecke trägt ein verticales Abflussrohr, wo das sich beim Erwärmen ausdehnende Wasser in die Höhe steigen kann. Die obere Mündung des Abflussrohres ist mit einem Kautschukschlauch verbunden, welches das emporgetriebene Wasser in ein beliebiges Gefäss und von dort beim Sinken der Temperatur zurück leitet. — Schon dieses System hat ein sehr langsames Erwärmen des Tisches gesichert und hätte bei Anwendung einer Gasflamme und eines Thermoregulators und bei gehöriger Dimension des Wasserbehälters auch eine ziemliche Constanz der Temperatur des Tisches, nicht aber des Präparates und nicht die vollkommene Uebereinstimmung der Temperatur des Objectes mit der des Tisches gesichert, da das Object blos von unten erwärmt wurde und oben mit nicht erwärmter Luft in Berührung und auch der wärmeentziehenden Wirkung der kalten Mikroskopröhre ausgesetzt blieb. Eine allseitige gleichmässige Erwärmung des Objectes und eine grössere Handlichkeit des Apparates blieben also noch zu wünschen übrig. — Auf die der SCHULTZE'schen Vorrichtung und überhaupt aller bis damals beschriebenen anhaftende grösste Fehlerquelle hat indessen TH. W. ENGELMANN [2] zuerst aufmerksam gemacht, und diese liegt, wie eben erwähnt, in der starken wärmeentziehenden Wirkung der grossen, kühlen Metallmasse des Mikroskops. Dadurch wird die thatsächliche Temperatur immer niedriger sein, als die vom Thermometer im Objecttisch angegebene, und zwar wird der Unterschied bei Benützung desselben Mikroskopes umso grösser, mit je **1868**

stärkeren, d. h. wegen ihrer geringeren Brennweite näher zu dem Object zu bringenden Systemen man untersucht, und je grösser der Unterschied zwischen der Zimmertemperatur, welche vom Mikroskop angenommen wird, und der Temperatur des Objecttisches ist. Diesem Uebel gegenüber ist die Benützung der RECKLINGHAUSEN'schen Glaskammer ziemlich machtlos, und schon ENGELMANN macht auf die Nothwendigkeit einer Vorkehrung aufmerksam, welche auch dem ganzen Mikroskop dieselbe Temperatur, wie dem Tische zu verleihen im Stande ist; sonst wird das Thermometer im Objecttisch nie zuverlässig die Temperatur auch vom Object angeben. Vorläufig schlägt ENGELMANN (p. 340) das Einschrauben von einer 30 mm langen Elfenbeinröhre zwischen Objectiv und Tubus des Mikroskops vor. Wenn nun das Objectiv bei dem Beobachten in die RECKLINGHAUSEN'sche Glaskammer gesteckt ist, so wird es bald die Temperatur des Tisches, annähernd wenigstens, bekommen und durch den schlecht leitenden Elfenbeinring viel weniger Wärme an die sonstigen Metalltheile des Mikroskopes abgeben können. Auch weist ENGELMANN darauf hin, dass auch Dicke, Grösse, Material und sonstige Beschaffenheit des Objectträgers selbst von grossem Einfluss auf die Temperatur ist, welche das Object annehmen kann. Viel weniger berücksichtigt ENGELMANN den Umstand, dass auch die fortwährend wechselnden Luftschichten, mit welchen der Objectträger und somit indirect das Object in Berührung kommt, die Constanz der Temperatur des letzteren beeinträchtigen. Gegen diese Fehlerquelle scheint ihm, wie schon M. SCHULTZE, die Benutzung der RECKLINGHAUSEN'schen Glaskammer genügend zu sein. Eine sichere Kontrollirung der Temperatur des Objectes wäre nach ihm bei den damaligen Apparaten nur dann möglich, wenn man gleichzeitig mit dem Object Substanzen beobachtete, deren Schmelzpunkt man genau kennen würde, und von welchen man sich eine Reihe von 35-50° C. zusammenstellen sollte, so dass jede Substanz um einen Grad schwerer als die vorhergehende schmelze. — So enthält die Schrift ENGELMANN's bereits die meisten Grundsätze, nach welchen sich die späteren Bestrebungen, die mikroskopischen Wärmevorrichtungen zu verbessern, richteten.

1869 Den ersten wichtigen Schritt in dieser Richtung hat 1869 S. STRICKER [2] gethan, welcher sich in der Einleitung seines Handbuches sehr eingehend mit der Erwärmung des Objectes beschäftigt (p. X-XVI) und mehrere neue Vorrichtungen empfiehlt. Er erwähnt, dass bereits damals auch das Durchleiten von warmen Dämpfen (vielleicht von FERD. COHN?) durch den Objecttisch versucht war. Als ein neues Princip der Heizung führt er die Umsetzung von elektrischen Strömen in Wärme ein. Weit wichtiger indessen als dieses Princip, welches sich in der Mikrotechnik nicht dauernd einbürgern konnte, ist, dass STRICKER die Heizung des Objecttisches aufgegeben und sich auf die des Objectträgers, ja sogar blos der näheren Umgebung des Objectes beschränkt hat. Erstlich belegt er einen gläsernen Objectträger in der Weise mit passend zugeschnittenem Stanniolpapier (p. X Figur IV), dass die Seitenwände der Zelle für das Object durch das Stanniol gebildet werden. Zwei entgegengesetzte Punkte des Stanniolbelages sind mit den Elektroden einer constanten Kette verbunden. Er wickelt das Thermometer, welches die Temperatur des Objectes anzeigen soll, in das Stanniol des Belages an passender Stelle ein, muss aber das Verhältniss der vom Thermometer angegebenen

Werthe zur wahren Temperatur des Objectes erst durch Versuche mit Substanzen von bekanntem Schmelzpunkte, die an die Stelle des Objectes gelegt sind, ganz wie M. Schultze, erst noch besonders ermitteln. Näher zu einander stehen diese Werthe, wenn man, nach einem anderen Vorschlage Stricker's, die Seitenwand der feuchten Kammer aus dem ringförmigen, in den dicken Glasobjectträger eingesenkten Quecksilbergefäss des Thermometers selbst bestehen lässt und den heizenden sehr feinen Kupfer- oder Platindraht in enger Spirale um das Quecksilbergefäss windet, welches das Deckglas mit dem hangenden Tropfen trägt. — Für Fälle, wo es mehr nur auf das Erwärmen des Objectes unter dem Mikroskop überhaupt, als auf Constanz und genaue Kenntniss der Temperatur ankommt, schlägt Stricker (p. XIII-XIV, Figur VII) einen heizbaren Objectträger von Glas vor, in welchem in der Mitte ein Kupferring eingeschliffen ist und in einen unter dem Objectträger liegenden, vorne hervorragenden Kupferstab ausgeht. Auf diesen Stab wird ein längerer Kupferstab geschraubt und am freien Ende mit einer möglichst kleinen Flamme direct erwärmt. Auf den Kupferring, welcher mit der oberen Objectträgerfläche eine Ebene bildet, wird das Deckglas mit dem hangenden Tropfen über das Lumen des Ringes (welches — meine ich — vermittels eines aufgeklebten Deckglases auch nach unten verschlossen sein kann und so eine feuchte Kammer bildet) gelegt. — Auch zum raschen Wechseln der Temperatur construirte Stricker (p. XV-XVI, Figur VIII u. IX) einen Objectträger. Derselbe ist von Metall mit centralem Loch für das Licht, innen hohl und mit einem Zu- und einem Ableitungsrohr, durch welche bald warmes Wasser oder Dampf, bald Eiswasser geleitet werden kann. Das Quecksilbergefäss des Thermometers umgiebt auch hier das centrale Loch, und die Röhre mit der Scala legt sich einer Langseite des Objectträgers seitlich an. — Endlich erwähnt noch Stricker (p. XV) zwei „umfangreichere Wärmeapparate“ von Kühne und Recklinghausen, die dem Uebelstande anderer Apparate, dass bei ihnen die Temperatur des Objectes innerhalb gewisser Grenzen trotz aller Vorsichtsmassregeln doch schwankt, abzuhelfen suchen. Diese Apparate scheinen indessen damals noch nicht beschrieben gewesen zu sein. (Ob sie später beschrieben wurden, weiss ich nicht.)

1870 1870 berichtet Burdon Sanderson [1] über einen etwas zu complicirten Wärmeapparat, den er zusammen mit Stricker in London benutzte.

1871 Diesen, aber in mancher Hinsicht von ihm nachträglich vereinfachten Apparat beschreibt 1871 auch S. Stricker [4]. Als „bekanntermassen“ geeignete Objecte zur Untersuchung der Circulation bei Säugethieren werden die Flügel der Fledermäuse, das Ohr und selbst das Auge von jungen Kaninchen erwähnt. Zur Untersuchung auch der Elemente des Blutes seien diese indessen nicht geeignet. (Später hat man eigens zu diesem Zwecke gerade die Flughaut der Fledermaus vorgeschlagen: Bizzozero 1884, C. Laker [1] 1889.) Stricker machte also mit dem Mesenterium resp. Omentum vom Kaninchen und Meerschweinchen Versuche. Kaninchen lassen sich mit Chloralhydrat ebenso, wie mit Curare, narcotisiren und dennoch braucht bei diesem Thier nach Chloralhydrat keine künstliche Respiration, wie nach Curare, eingeleitet werden, da es auch so ununterbrochen athmet. In dieser Beziehung ungünstiger, aber in Betreff der Untersuchbarkeit ihres Omentums, welches sich durch einen geeigneten Schnitt sehr gut allein hervorziehen, ausbreiten und in neutraler

Flüssigkeit untersuchen lässt, viel günstiger sind Meerschweinchen. Dabei musste natürlich das Omentum auch auf der Körpertemperatur des Thieres erhalten werden. Als heizendes Prinzip wurde heisses Wasser durch den Objectträger geleitet; die Constanz der Temperatur des Objectträgers wurde dadurch erreicht, dass in einem Behälter bis zum Sieden erwärmtes (also eine constante Temperatur besitzendes) Wasser mit einer constanten Schnelligkeit durch den Objectträger floss. Gegen die Wärmeentziehung von Seiten des Mikroskops wurde das Objectivsystem durch einen eingeschalteten Hartgummiring von dem Tubus des Mikroskops erstens thermisch isolirt, und zweitens um den oberen Theil davon (den Linsenträger) ein Bleirohr gelöthet, dessen beide, frei hervorragenden und etwas divergirenden Enden mit Kautschukröhren verbunden waren, welche warmes Wasser hin- und wegleiteten, wodurch auch dem Objectiv dieselbe Temperatur wie dem Tische oder eine beliebige andere verlichen werden konnte (Figur 3). Natürlich musste auch dafür gesorgt werden, dass sich die neutrale Flüssigkeit, in welcher das Omentum untersucht wurde, durch Verdunstung des Wassers nicht concentrire. Dazu wurde noch eine regulirbare Tropfvorrichtung in die Leitung für den Tisch eingeschaltet und das nöthige Wasserquantum dem neutralen Bade zugetröpfelt (Figur 5). — Diese ganze Einrichtung mag nun für jenen speciellen Fall befriedigende Resultate gegeben haben, aber man sieht, dass sie noch immer viel zu verwickelt war, um allgemein brauchbar zu sein. Auch schien es den Mikrographen nicht überflüssig, nach besseren zu suchen.

1873 Und in der That tauchte die Idee der heute noch tadellosesten Wärmevorrichtung bereits 1873 auf. J. SACHS [1] hat nämlich 1873 zuerst das ganze Mikroskop sammt Object bis zur Brücke der Mikroskopröhre in einen Wärmekasten gestellt (ein Zinkkasten, dessen Wände mit Wasser gefüllt sind, vorne mit Glasfenster, aber oben offen, nach dem Hineinstellen des Mikroskops mit Pappdeckel zu schliessen p. 643-644, Figur 445).

1874 Weiter hat 1874 E. A. SCHÄFER [3] bei einer Heizvorrichtung im Wesentlichen nach dem SCHKLAREWSKI'schen Typus (Metallkasten, Reservoir, Wasserstrom) einen Gasregulator angebracht, um die Erwärmung des Wassers im Reservoir nach dem Stande des Thermometers im Tisch zu reguliren. — Auch F. J. M. PAGE [1] suchte eine einfache Form von Gasregulator für ähnliche Zwecke zu construiren.

1875 Dagegen bedeutet der „differential warm stage“ von C. H. GOLDING-BIRD [2] 1875 keinen Fortschritt, indem er zu dem SCHULTZE'schen Typus (Kupferplatte mit direct erhitzten Armen) zurückkehrte, blos die Kupferplatte mit centralem Loch auf eine Glasplatte legte und so gleichzeitig eine feuchte Kammer erzielte. — Ein Vorwärtsschreiten in der besten Richtung erblicken wir indessen in dem Versuch von P. L. PANUM [1], der, wie SACHS, das ganze Mikroskop, mit Ausnahme des Oculars und der Mikrometerschraube, in ein Thermostat, einen doppelwandigen, mit Wasser gefüllten und auf constanter Temperatur erhaltenen Kasten stellte (der SACHS-PANUM'sche Typus der Wärmevorrichtungen). — Weniger vorwurfsfrei, aber viel bequemer für die Untersuchung ist der Apparat von L. RANVIER [2] (in der deutschen Uebersetzung [2a] auf p. 38-40, Figur 23), welcher (in Betreff,

der Constanthaltung der Temperatur des Objectes[1] sogar beinahe tadellos gemacht werden kann einfach dadurch, dass man zum Erwärmen des möglichst grossen Reservoirgefässes eine mittels empfindlichen und zuverlässigen Thermoregulators regulirbare Gasflamme benützt und das Objectivsystem durch einen eingeschalteten Hartgummiring (s. weiter oben) von der Mikroskopröhre thermisch isolirt. Letzteres vermissen wir bei Ranvier sogar in der Auflage von 1889 [1], ersterem ist auf p. 37 mit folgenden Worten Rechnung getragen: „On peut remplacer la marmite par une petite étuve à température constante comme, du reste, l'a fait d'Arsonval.“ Der Apparat von Ranvier, den er seit 1865 zu benützen behauptet ([1] p. 35), ist nämlich eine vervollkommnete Heizvorrichtung nach dem Schklarewski-schen Typus, und zwar dadurch vervollkommnet, dass das Wasser nicht den Mikroskoptisch selbst, sondern einen auf den Tisch zu legenden, kleinen Messingkasten durchströmt, wo der Objectträger hineingeschoben und allseitig erwärmt wird. Das rechtwinkelige Messingkästchen trägt in seiner mittleren Partie seitlich eine horizontale Spalte, um das Präparat einschieben zu können. In der Mitte ist es von oben nach unten von einer Oeffnung durchbohrt, welche unten von einer Glasplatte versperrt ist und oben den Zutritt des Objectivsystems an das Präparat gestattet. (Typus Schklarewski-Ranvier wäre vielleicht die richtigste Bezeichnung dieser Methode.)

1876 W. Velten [1] — vom Verfahren Stricker's [4] können wir absehen, da bei ihm die Immersion des Objectes einen anderen Zweck hatte, ebenso auch von den Versuchen von De Vries [1] 1870, welcher blos sein Object erst in heisses Wasser tauchte, um es dann am gewöhnlichen Objecttisch zu untersuchen (s. bei Velten [1] p. 181) — führt 1876 die Immersionsmethode zum Erwärmen des Objectes unter dem Mikroskop ein (p. 196-197, Tafel VIII). Der Objectträger mit dem in geeigneter Weise bedeckten Object wird in einem Becherglas mit warmem Wasser unter das Mikroskop gebracht. Weitere Ausnützung fand diese an und für sich so plausible Idee in der thierischen Biologie erst sehr spät, 1890 durch Ranvier und Pfeffer (s. w. u.). — 1876 ausgestellte Wärmeapparate von Vogelsang, Klebs, Burdon-Sanderson, Ferd. Cohn und der Genfer Gesellschaft zur Herstellung wissenschaftlicher Apparate sind bei A. W. Hofmann [1] p. 655-656 erwähnt.

1877 1877 richtet A. H. Reeves [2] einen nach dem Nägeli'schen Princip erwärmten Objectträger (welchen er den Stricker-Sanderson'schen nennt), bei Benutzung des Gasregulators nach Page, zur Untersuchung der Entwickelung von kleineren Vogeleiern (Sperling bis Taube) ein. In die ellipsoidische Aushöhlung wird das Ei, dessen Schale über dem Embryo entfernt ist, mit Watte umgeben eingelegt, mit dem Deckglas bedeckt und der Embryo als opakes Object, bei auffallendem Lichte beobachtet. Mit einer Oeffnung im Boden des Objectträgers für durchfallendes Licht, glaubt Reeves, könnte man Vogelembryonen auch als durchsichtige Objecte beobachten, falls man einen Theil der Eischale auch unten entfernte.

---

[1]) Viel weniger günstig sind dabei die Bedingungen der Beobachtung selbst in optischer Hinsicht, s. § 32.

1880 E. H. Bartley [1] empfiehlt 1880 einen leicht herstellbaren Wärmeapparat (nach dem Typus Nägeli), welcher indessen auf grössere Genauigkeit im Bestimmen und Constanthalten der Temperatur des Objectes keine Ansprüche machen kann: das warme Wasser fliesst durch ein U-förmiges, auf dem Objectträger zwischen Korkstücken aufgekittetes Glasrohr, worauf der Objectträger zu liegen kommt. — Das „chemische Mikroskop" von Nachet [1] ist auch mit einer durch warme Dämpfe zu heizenden Wärmekammer versehen.

1881 A. A. Julien [1] führt 1881 eine bequemere Form des Immersionswasserbades bei mikroskopischen Untersuchungen ein; seine Vorrichtung dient zwar eigentlich blos mineralogischen Untersuchungen, sie kann aber (s. weiter unten) auch für biologische modificirt werden. Manche Objecte kann man auch in wasserdicht geschlossenen Zellen für viele Zwecke lange genug lebend und unverändert erhalten. Solche kann man entweder sammt Objectträger mit der Zelle in ein viereckiges Glaskästchen legen, in welchem Wasser leicht auf einer beliebigen constanten Temperatur zu erhalten ist, oder es kann der Boden eines solchen Kästchens selbst als Objectträger dienen. Untersuchen soll man natürlich mit Wasser-Immersionssystemen, welche von der Mikroskopröhre thermisch isolirt sind, oder mit Trockensystemen und dem Stiefel der Engländer (Tauchhülse Schiefferdecker, s. p. 297 d. v. W.). Vortheile einer solchen Einrichtung sind erstens die Sicherheit, dass das Object, welches nun wirklich allseitig und gleichmässig erwärmt ist, die vom Thermometer, dessen Quecksilbergefäss sich im Bade in unmittelbarer Nähe des Objectes befinden kann, gezeigte Temperatur wirklich besitzt und constant behält, zweitens die grössere Bequemlichkeit beim Arbeiten im Vergleich mit Vorrichtungen, wo das ganze Mikroskop in das Thermostat gestellt ist. — Der heizbare Objecttisch von Senarmont (den ich blos aus Dippel [1] I. Th., II. Abth. [1882] p. 665-656, Figur 466 kenne) gehört zu dem Schultze'schen Typus, indem eine directe Erwärmung des Objecttisches vermittels einer seitlichen Verlängerung desselben stattfindet. Eigentlich sollte blos die Luft in dem doppelwandigen Parallelopiped aus dünnem Blech, welches als Objecttisch dient, erwärmt und deshalb die Flamme in einen nach unten gerichteten röhrenförmigen, innen mit einer Glimmerplatte ausgekleideten Ansatz gestellt werden. Das Object, offenbar auf dem Deckglas im hangenden Tropfen, über dem abgeschlossenen centralen Theil des Tisches, welcher die Zelle bildet, erhält jedoch auch direct Wärme von der oberen Wand des Kästchens, auf dessen centralem Ausschnitt das Deckglas aufliegt, da ja die thermische Isolirung der oberen Tischplatte durch die Glimmerbekleidung der Ansatzröhre auf die Dauer nicht genügen kann. Das Quecksilbergefäss des Thermometers umgiebt nach der Idee von Stricker, in eine Ringfurche eingesenkt, kreisförmig die obere centrale Oeffnung. Mir scheint dieser Apparat über andere einfachere keine wesentlichen Vortheile gehabt zu haben.

1882 W. H. Symons [1] 1882: erwärmbarer oder kühlbarer Objectträger, eine etwas anders geformte Metallbüchse nach dem Typus Schklarewski-Stricker. — W. J. Dibdin [1]: ein viereckiges, flaches Glasgefäss als nach dem Nägelischen Princip erwärmbarer Objectträger. (Sehr einfach.)

1883 L. R. Maddox [4] beschreibt 1883 zwei Formen von Objectträgern, in welchen das warme Wasser blos ringförmig die Zelle, wo sich das Object

befindet, umkreist, indem es in der einen Form in einer Ringfurche, in der anderen zwischen zwei Wällen, von denen der innere die Seitenwand der Zelle darstellt, circulirt. Die Apparate scheinen zwar handlich gewesen zu sein, bedeuten aber keinen Fortschritt, da bei ihnen die Temperatur des Objectes ebensowenig wie bei älteren ähnlichen dem vom Thermometer angegebenen entspricht und ihr Constanthalten mit denselben Schwierigkeiten verbunden ist.

1884 M. Flesch [3] beschreibt 1884 einen in keinem wesentlichen Punkt neuen Objecttisch, welcher an Stelle des gewöhnlichen Objecttisches besonders anzupassen ist, zum schnellen Wechsel der Temperatur: es ist eben der Apparat von Schklarewski, den Flesch nicht gekannt zu haben scheint, mit allen seinen Vortheilen und Mängeln; auch braucht er dazu noch ein eigenes Mikroskop, wenn die Beleuchtungsverhältnisse günstig sein sollen. — Theodor Stein [1] kehrt zu dem Stricker'schen heizenden Princip, zur Elektricität zurück und construirt einen elektrisch heizbaren Objecttisch, Typus Stricker. Derselbe ist eigentlich eine so zu sagen nebensächliche Beigabe der elektrischen Beleuchtungsvorrichtung Stein's. In den aus zwei Platten bestehenden Objecttisch ist zwischen jenen um die centrale Oeffnung herum eine Platinspirale eingelassen, welche sich bei Durchtreten des regulirbaren Stromes mehr oder weniger erhitzt und dadurch die Luft in der Oeffnung des Tisches und somit auch das Object über der Oeffnung erwärmt. Die Temperatur wird durch ein in nächster Nähe des Objectes angebrachtes Metallspiral-Thermometer oder eine thermoelektrische Säule angezeigt. Der Wärmeapparat besitzt alle Nachtheile des Schultze'schen und Stricker'schen Typus, ohne den Vortheil der grossen Einfachheit und Billigkeit besonders des ersteren von beiden.

1885 M. Löwit [2] macht 1885 den heizbaren Objecttisch nach Schklarewski für Untersuchungen mit starken Vergrösserungen dadurch geeigneter, dass er in die centrale Oeffnung desselben einen kleinen Condensor aus zwei Convexlinsen einfügt. Die Constanthaltung der Temperatur geschieht nach der Idee von Stricker (s. p. 304 d. v. W.). — In der Vorrichtung von W. Vignal [1], welcher ein Ranvier'sches Wärmekästchen mit Arsonval'schem Gasregulator benützt, ist neu, dass er direct das im Heizkästchen befindliche Wasser erwärmt und zwar dadurch, dass er eine kleine Gasflamme unter einem Ansatzrohre des unteren Theiles vom Kästchen brennen lässt. Es ist indessen fraglich, ob die Beobachtung mit diesem Apparat bequemer als mit dem alten Ranvier'schen ist. Die Ausnützung von Objectivsystemen, welche einen Abbe'schen Beleuchtungsapparat beanspruchen, beeinträchtigen beide in gleichem Grade, und auch sonstige Mängel sind ihnen gemein. — Dagegen theilt uns O. Israel [2] eine Idee mit, durch welche, bei mindestens ebenso zuverlässigem Erwärmen des Objectes, wie nach denjenigen der früheren Methoden, bei welchen blos der Objecttisch oder der Objectträger geheizt wurde, die Störung der Beleuchtungsverhältnisse mit einem Schlag beseitigt ist. Man erwärme den Objectträger, resp. die feuchte Kammer, einfach blos von oben. Geeignet zum Verwenden mit der Vorrichtung von Israel sind allerdings blos Objectträger, bei welchen das Deckglas in eine Nuth von entsprechender Tiefe versenkt werden kann, damit es nicht über dem Niveau des Objectträgers hervorrage. Die Wärmeflasche — so nennt Israel

seinen Apparat — besteht aus einer flachen, runden, im Centrum für das Objectivsystem durchbohrten, an der Unterfläche plan geschliffenen Metallkapsel mit Zu- und Abflussröhren und Thermometer. Der Objectträger, welcher rechts und links mindestens 2 cm unter dem Rande der Kapsel hervorragt, lässt sich bei guter Ausführung derselben glatt und leicht hin und her schieben. — Es ist leicht zu ersehen, dass dieser Apparat, eigentlich nichts weiter, als nur der obere Theil des RANVIER'schen Wärmekästchens, alle sonstigen Mängel von diesem ebenfalls besitzt. So sagt ISRAEL selbst (p. 462-463), dass, wenn man eine Kammertemperatur von 37° haben will, die Temperatur des Wassers, je nach dem benützten Objectivsystem, auf 42° bis 47° zu regulieren und die genaue Temperatur stets besonders zu bestimmen ist.

1886 L. MALASSEZ [2] 1886: Wärmetisch nach dem SCHULTZE'schen Typus, blos mit nur einem Arm, aber doppelter Tischplatte. Das Präparat ist zwischen die obere und untere Platte hineinzuschieben (also ein RANVIER'sches Wärmekästchen, aber nicht doppelwandig und nicht mit Wasser gefüllt, sondern aus massivem Metall).

1887 Vielleicht noch primitiver ist der „einfache Apparat zur Erwärmung und Abkühlung von Objecten unter dem Mikroskop", den H. DEWITZ [1] 1887 vorgeschlagen hat. Man könnte ihn Wärmeschachtel nennen. Er entspricht dem unteren Theil des RANVIER'schen Wärmekästchens mit der von VIGNAL angebrachten Ansatzröhre. Die Flamme wird, je nachdem man eine stärkere oder geringere Erwärmung wünscht, in geringerer oder grösserer Entfernung von der (mit Wasser durch ein grösseres Loch im Deckel gefüllten) runden Messingschachtel unter die ziemlich lange Ansatzröhre gestellt. Die eine Hälfte der Schachtel ist niedriger, und in dieser befindet sich eine runde, mit Glas verschlossene Oeffnung sowohl in dem Boden, als auch in dem Deckel der wasserdicht zusammengelötheten Schachtel. Das Object wird auf die Glasscheibe der Deckelöffnung gelegt und mit dem gestützten Deckglas bedeckt. Durch das zuerst erwähnte Loch (im Deckel der höheren Schachtelhälfte, wohin auch ein Thermometer hineinzustecken ist), können Eisstücke hineingethan und so eine Erniedrigung der Temperatur erzielt werden. Der einzige, allerdings oft hoch genug anzuschlagende Vortheil dieser Wärmeschachtel ist, dass sie nach DEWITZ (p. 666) blos zwei Mark kostet. Auch beschäftigen wir uns damit nur deshalb so eingehend, weil wir hier eine neue Methode der Wärmeregulirung eingeführt sehen. — L. PFEIFFER [2]: eine Heizvorrichtung Typus SACHS-PANUM (p. 397-399, Figur, ein Cliché von C. ZEISS, auf p. 398). Das Mikroskop ist bis zur Höhe der Mikrometerschraube, welche frei zugänglich ist, in einem gut schliessenden Gehäuse aus Holz oder Asbestpappe auf eine dicke Metallplatte gestellt. Die Heizung erfolgt durch Erwärmung der in den Arbeitstisch eingelassenen Platte von unten mittelst regulirbaren Mikrobrenners. Das Instrument, welches C. ZEISS liefert, ist ein Mahagonischrank; die Metallplatte steht auf drei Füssen auf dem Arbeitstisch (vergl. Catalog No. 30, 1895, p. 93, Figur 59).

1888 Im Journ. R. Micr. Soc. wird 1888 die alte SCHKLAREWSKI'sche Wärmevorrichtung nochmals (wie 1874 bereits im Q. Journ. Micr. Sc.) als der „hot-water circulation stage" von E. A. SCHÄFER [4] beschrieben. Ein Quecksilberregulator dazu heisst „SWIFT's regulator". (Bereits BEHRENS hat in der Zeit. Wiss. Mikr. Bd. V (1888), p. 493 dagegen Protest erhoben, dass

man einen solchen Apparat nach SCHÄFER nenne, da „alle älteren heizbaren Tische von derselben Construction" sind.)

V. BABES [2]: ein Wärmekästchen nach dem RANVIER'schen Typus (p. 23-25, Figur 6 und 7). Es ist mit Wasser oder Glycerin gefüllt. Von der VIGNAL'schen Modification unterscheidet es sich darin, dass anstatt der Ansatzröhre ein Kupferstab, welcher seitlich am Kasten hervorragt und sich nach innen, im Wasserraume in einen spiralig gewundenen dicken Kupferdraht fortsetzt, direct von der Flamme erwärmt wird. Letztere ist durch ein elektrisches Thermometer, dessen Quecksilbergefäss sich im inneren Luftraum des Kastens, neben dem Object befindet, zu reguliren. Die von STRICKER eingeführte Methode der Heizung ist also hier beim RANVIER'schen Wärmekästchen angewandt: eine neue Combination von alten Dingen. — GEO. NUTTALL [1] construirte auf Veranlassung von C. FLÜGGE ebenfalls einen Wärmekasten für das ganze Mikroskop „nach einer von SACHS angegebenen Idee modificirt" (p. 374). Die Seitenwände und die Decke (aus zwei Stücken) sind in Charnieren nach auswärts zu klappen; sie sind doppelwandig von Metall, innen mit Asbest ausgefüllt. Der fixe Boden, die hintere und vordere Wand (letztere mit Fenster) sind doppelwandig, mit Wasser gefüllt. In der linken Seitenwand ist auch eine verschliessbare Oeffnung zum Hineinführen der Hand zum Präparat angebracht. (Beim PFEIFFER-schen Apparat sind beide Seitenwände zu öffnen.) — K. ABEL [1] beschreibt 1889 den neuen Thermoregulator nach LAUTENSCHLÄGER, mit welchem man jede beliebige Temperatur sofort einstellen und absolut constant halten kann. Das ist das elektrische Contactthermometer, welches bei dem Heizkasten von PLEHN bald auch für die Constanthaltung der Temperatur des Objectes unter dem Mikroskop Verwerthung fand. 1889

Während dessen PFEIFFER 1887 einen Luftthermostat angegeben hat, kehrte F. PLEHN [1] 1890 auch zur ursprünglichen SACHS-PANUM'schen Methode zurück und liess zu diesem Zwecke von F. und M. LAUTENSCHLÄGER (Berlin) einen doppelwandigen, Asbest-bekleideten Brütofen mit Wasserfüllung verfertigen. Dieser Apparat, versehen mit dem elektrischen Contactthermometer, Patent LAUTENSCHLÄGER, für die Regulirung der Innentemperatur des Heizkastens ist bisher der vollkommenste sowohl in Betreff der Constanz der Temperatur für beliebig lange Zeit, als auch in Betreff der directen Ablesbarkeit der Temperatur des Objectes selbst vom Thermometer. — L. RANVIER [8] wendet die Immersionsmethode (den VELTEN-JULIEN'schen Typus der Wärmevorrichtungen) bei biologischen Untersuchungen zuerst wieder an und zwar in etwas übertriebener Form, indem er das ganze Mikroskop bis 1 cm über dem Objecte in ein Gefäss mit warmem Wasser stellt. Er behauptet in dieser Weise sogar bequem zu arbeiten. — Bald darauf beschrieb W. PFEFFER [1] eine andere Vorrichtung, welche die VELTEN-JULIEN'sche Idee in praktischerer Weise ausnützt, allein die Anforderungen der Beleuchtung durch den ABBE'schen Apparat garnicht berücksichtigt. Das Glaskästchen mit dem zu erwärmenden Wasser, wo der Objectträger eingetaucht werden soll, steht auf einem SCHULTZE'schen Wärmetisch. Unter den zwei Armen des letzteren brennt je ein Gasmikrobrenner, deren Flamme durch einen REICHERT'schen (— bei PFEIFFER heisst er ein STRICKER'scher, p. 434 —) Regulator regulirt wird, dessen rechtwinkelig abgebogenes Quecksilbergefäss horizontal im 1890

Wasser des Kästchens liegt und der verticale Endtheil nicht bis zum Ocular reicht. Ein schräg nach oben und vorne gerichtetes Thermometer giebt die Temperatur des Wassers an. Zum Festhalten von beiden müssen entweder besondere Stative neben dem Mikroskop stehen oder Klammern in geeigneter Weise am Körper des Mikroskops angebracht werden. Weder das eine, noch das andere trägt zum bequemen Arbeiten mit dem Apparat bei. PFEFFER beschreibt dazu drei Formen von wasserdicht schliessenden Zellen besonders, aber keine neue. Um bei der Beobachtung des submersen Objectes auch Trockenlinsen verwenden zu können, empfiehlt er als etwas Neues entweder den Stiefel der Engländer (Tauchhülse, wie den Apparat, den auch HÄLLSTÉN [2] — s. weiter oben — als neu beschrieben hat, SCHIEFFERDECKER nennen möchte) oder einen auf das Deckglas aufgekitteten, genügend weiten Glascylinder, der über das Wasserniveau des Glaskastens ragt. Mit dem letzteren kann man auch Oelimmersionen benutzen, man reducirt aber durch diesen Glascylinder, welcher ziemlich weit sein muss um die Einstellung von verschiedenen Partien des Objectes zu ermöglichen, die Zuverlässigkeit der gesammten Einrichtung ganz wesentlich, da man ja in dieser Weise einen grossen Luftraum gerade über dem Objecte schafft. In diesem Fall ist aber das RANVIER'sche Wärmekästchen ebenso gut und dabei viel bequemer. — PFEFFER hat (p. 442) eine Verschiebbarkeit des Objectträgers ohne Oeffnen des SACHS-PANUM'schen Heizkastens dadurch zu erreichen gesucht, dass er Kautschukfinger in Oeffnungen der Seitenwand des Kastens, ein wenig oberhalb des Objecttisches, einsetzbar machte. Mir scheint dieser Zweck viel natürlicher und besser dadurch erreicht zu sein, dass man einen beweglichen Objecttisch benutzt, dessen Trieb- und Schraubenköpfe durch je einen, nach dem Hineinstellen des Mikroskopes anbringbaren Ansatzstücke der betreffenden Schraubenachse genug verlängert sind, um durch kleine Oeffnungen der seitlichen Kastenwand hervorzuragen (eine ähnliche Vorrichtung s. bei PLEHN [1]). — R. REYBURN [1] erfindet den Heiztisch von SCHWEIGGER-SEIDEL [1] 1863 und ROLLET [2] 1864 noch einmal (Kupferplatte auf Holzunterlage mit einer durch eine Spiritusflamme zu erwärmenden Verlängerung nach vorne; Thermometer auf der Kupferplatte, recht weit vom Object).

1891 L. PFEIFFER [1] beschreibt 1891 eine neue Form des heizbaren Objectträgers Typus SCHKLAREWSKI-STRICKER. Dieselbe, ein niedriges viereckiges Glaskästchen mit Ausschliffen in der oberen Glasplatte, haben wir bereits auf p. 201 besprochen. Ganz derselbe Objecttisch, mit derselben Abbildung ist im Journ. R. Micr. Soc. (2) Bd. XII (1892) p. 107, Figur 6 nach der aus dem Bull. Soc. Belg. Micr. Bd. XVIII (1891) p. 5-7 entnommenen Beschreibung von DROSTEN [2] geschildert, aber ohne Erwähnung von PFEIFFER. — „Dr. DALLINGER's Thermo static Stage for Continuous Observations" ist ein erwärmbarer Objectträger Typus SCHKLAREWSKI-STRICKER, zu welchem DALLINGER (s. CARPENTER W. B. [2] p. 292-293, Figur 255) seine feuchte Kammer adaptirt hat. Das Reservoirgefäss, von welchem die Zelle Feuchtigkeit erhält, ein kleines Cylindergefäss, ist hier in ein nach unten gerichtetes, ebenfalls doppelwandiges hülsenförmiges Ansatzstück des Objectträgers gesteckt. An diesem Ansatz ist die Zuflussröhre angebracht. Erwähnenswerth ist bei dieser Vorrichtung noch, dass die obere Oeffnung des Objecttisches mit zwei Glasplättchen bedeckt ist, zwischen welchen eine dünne Schichte

des warmen Wassers circulirt, so dass das Object, welches auf dem oberen Glasplättchen liegt, durch die Oeffnung für den Lichtzutritt keinen Wärmeverlust erleiden kann. Dafür, dass der Condensor der grösseren Dicke des Tisches entsprechend irgendwie höher gestellt und so näher zum Object gebracht werden könne, ist auch bei DALLINGER nicht gesorgt.

In dem Preisverzeichniss von C. REICHERT aus 1892 ist (auf p. 38, Figur 26a) eine Erwärmungsvorrichtung „nach Angabe von Dr. SPIETSCHKA“ für den LÖWIT'schen Objectträger (ein STRICKER'scher mit Condensor in der centralen Oeffnung) beschrieben: eine spiralig gewundene Röhre bildet eine flache Scheibe, welche über die Gasflamme gelegt und an dem einen Ende der Spirale mit einem beliebigen, hoch gestellten Wassergefäss, an dem anderen mit dem Objecttisch durch Kautschukröhren verbunden ist. Aus dem Objectträger fliesst das Wasser durch eine mit Quetschhahn versehene Kautschukröhre in ein beliebiges, niedriger gestelltes Gefäss. Dadurch nun, dass man das Wasser, das Zuflussgefäss höher oder niedriger stellend, oder den Quetschhahn mehr oder weniger öffnend, rascher oder langsamer durch die Spiralscheibe fliessen lässt, kann man b e i g l e i c h b l e i b e n d e r, also mit einem Gasdruckregulator versehener und vor Luftströmungen geschützter, Gasflamme jede beliebige Temperatur des Objectträgers erzielen (vergl. das regulirende Princip bei STRICKER [4] 1871). — PAUL FRIEDRICH [1] beschreibt eine bereits bei Gelegenheit des X. internationalen medicinischen Congresses ausgestellte und im Ausstellungskatalog kurz geschilderte sehr praktische Form des SACHS-PANUM'schen Heizkastens, einen Wasserthermostatschrank, dessen unterer Anheizraum mit dem Mikrobrenner auch allseitig, ausgenommen nach vorn, geschlossen ist und so den Untersuchenden gar nicht belästigt. FRIEDRICH behauptet, dass das zum Einführen der das Präparat bewegenden Hand nothwendige seitliche Oeffnen dieses Schrankes in der Temperatur des Objectes sogar bei mehrstündigem Arbeiten blos Schwankungen von 1/20 - 1/10 Grad zur Folge hat. Das Thermometer zeigt die Wassertemperatur an; die Differenz zwischen Objecttemperatur und Wassertemperatur ist für den betreffenden Apparat durch Schmelzproben (wie zur Zeit von SCHULTZE!) erst besonders zu ermitteln. Die Vorrichtung scheint mir noch immer verbesserungsbedürftig, aber auch verbesserungsfähig zu sein (s. im § 32).

1892

Der neue mikroskopische „Heiztisch“ von WILH. BEHRENS [3] 1895 ist ein höchst sinnreich construirter Apparat, nur ist er kein Heiztisch. Auch ein Objectträger ist er nicht, sondern eine Objectbedeckung. Der regelrechte Objectträger von etwas längerem Format (120 × 26) mit dem Object liegt auf dem gewöhnlichen mittelgrossen Mikroskoptisch und wird von der Wärmevorrichtung nach dem von ISRAEL eingeführten Princip blos bedeckt. ISRAEL nannte seinen Apparat, dessen Hauptzweck gewesen ist, eine ungestörte Beleuchtug des Objectes trotz der Wärmevorrichtung zuzulassen, W ä r m e f l a s c h e (s. auf p. 308 d. v. W.); den von BEHRENS könnte man e r w ä r m b a r e s O b j e c t - D e c k k ä s t c h e n nennen. Er entspricht dem oberen Theil eines RANVIER'schen Wärmekästchens, dessen unterer Theil hier vom Mikroskoptisch selbst ersetzt wird, und ist, mit Ausnahme eines Glasfensters in der Decke des Kastens, durch welches ein Thermometer zum Angeben der Temperatur im Kasten sichtbar ist, ganz von Metall gearbeitet. Das heizende Princip ist das von NÄGELI: Durchtsrömung von warmem Wasser. Das die Temperatur des Kastens regulirende Princip ist STRICKER'S Eigenthum:

1895

die Stromgeschwindigkeit, mit welcher Wasser von einer bestimmten Temperatur den Kasten durchfliesst. Neu ist die Art und Weise der automatischen Regulirung der Stromgeschwindigkeit, welche, sobald die Temperatur im Begriffe ist, über die eingestellte Höhe zu steigen, sich vermindert, im entgegengesetzten Fall dagegen sich vergrössert. Diese Regulirung beruht auf einer sehr praktischen Anbringung einer Art Luftthermometer im Innern des Kastens; die Luft in einem Cylinder dehnt sich bei Erhöhung der Temperatur des den Cylinder im Kasten umspülenden Wassers aus und schiebt einen Kolben vor die innere Oeffnung der Ausflussröhre und verringert oder versperrt sie. Wenn dadurch kein warmes Wasser mehr aus dem Wassergefäss mit constantem Flüssigkeitsniveau und nahezu constanter Temperatur in den Kasten kommen kann, so sinkt dessen Temperatur, der Kolben zieht sich zurück, die Oeffnung des Ausflussrohres wird wieder frei und die erwärmende Strömung nimmt zu oder beginnt von Neuem. Je weiter nun die innere Oeffnung der Ausflussröhre gegen den Kolben in den Kasten vorgeschoben wird, eine desto geringere Ausdehnung der Luft im Cylinder genügt, um die Ausflussöffnung zu versperren, und die Temperatur des Kastens wird auf einer umso geringeren Höhe constant stehen bleiben. Die feine Einstellung der Ausflussröhre geschieht durch eine Schraube, deren Fassung den betreffenden Temperaturhöhen entsprechend eingetheilt ist und an die Correctionsvorrichtung der Objectivsysteme erinnert. Die Temperatur des Objectes wird natürlich immer um einige Grade niedriger als die des Wassers im Kasten sein. Für jeden einzelnen Apparat und für jedes Mikroskop, welches man mit dem betreffenden Apparat gebrauchen will, muss man eine Tabelle für den Unterschied bei den verschiedenen Temperaturen durch Versuche feststellen. Bei der von Behrens (auf p. 11) beispielsweise mitgetheilten Tabelle ist der Einfluss des beobachtenden Objectivs auf die Temperatur des Objectes noch nicht berücksichtigt. Es ist aber einleuchtend, dass man auch für jedes Objectivsystem, etwa nach der Methode von Engelmann mit Schmelzproben (s. p. 303), eine besondere Tabelle verfertigen muss, zumal wenn keine thermische Isolirung des Objectivs von der Mikroskopröhre vorgenommen wird. In der Beschreibung von Behrens vermissen wir die Erwähnung einer solchen. Eine weitere Würdigung des Behrens'schen Apparates, welcher wenigstens in der Theorie der Wärmemethoden, einen entschiedenen Fortschritt bedeutet, werden wir im 32. § versuchen; in der Praxis wird der Preis von 120 Mark und die sehr sorgfältige Arbeit erfordernde Construction des Apparates gewiss von vielen als ein grosser Nachtheil empfunden werden.

Und damit beenden wir die Geschichte der Wärmemethoden, welche wir deshalb hier etwas ausführlicher behandeln zu müssen glaubten, weil wir uns über diesen Theil unserer Methodik im 26. § aus praktischen Gründen sehr kurz gefasst haben.

D. Mittel, um verschiedene Ansichten des Objectes unter dem Mikroskope zu bekommen. Hemmung und künstliches Hervorrufen seiner Bewegungen (zu §§ 27, 28).

1830 1830 beschrieb Goring [1] (p. 55) neben dem geraden auch einen diagonalen Stiefel (diagonal boot), eine am unteren Ende rechtwinkelig gebogene Tauchhülse, mit einem Metallspiegelchen oder einem rechtwinkeligen Prisma,

die unter einem Winkel von 45° so in der Beuge angebracht sind, dass durch die seitliche Oeffnung der Hülse horizontal auf sie fallende Strahlen vertical in das Objectiv reflectirt werden, wodurch man seitliche Ansichten des Objectes unter dem Mikroskop gewinnen kann. Ich erwähne hier diesen Apparat deshalb, weil ich glaube, dass die Idee davon noch viel besser zu diesem Zwecke ausgenützt werden könnte, als es bisher geschehen ist.

Vom mikroskopischen Roller von L. Mandl [1] 1838 ist bereits auf p. 270 die Rede gewesen. **1838**

Die primitivste Vorrichtung, um den Einfluss von elektrischen Strömen auf das Object unter dem Mikroskop beobachten zu können, welche bei Schacht [2] 1862 noch allein erwähnt ist (p. 79), besteht aus zwei dünnen Platindrähten, welche (z. B. mit etwas Siegellack dergl.) so auf dem Objectträger befestigt sind, dass der eine Draht dem anderen gegenüber liegt und beide in die Flüssigkeit der Zelle mit dem Object tauchen oder letzteres an zwei Punkten auch berühren. Darauf werden die beiden Platindrähte mit den Poldrähten eines Inductionsapparates in Verbindung gebracht. Aber der erste besondere Apparat für ähnliche Zwecke ist wohl der kleine Entlader von Plössl, wo zwei verstellbare Drahtspitzen als Elektroden dienen. Das Object kommt auf ein Glasplättchen zwischen die Elektroden, und der ganze Apparat wird auf den Objecttisch gestellt. Er ist mehr für schwächere Vergrösserungen und Objecte, welche keine Bedeckung erfordern, geeignet.

Indessen hat Ernst Brücke [2] bereits 1862 die Mikrotecknik mit jener Art von elektrischen Objectträgern bereichert, welche heute noch als die am allgemeinsten verbreitete bezeichnet werden kann. „Um die Speichelkörperchen der Einwirkung des Magnetelektromotors aussetzen zu können", — so beschreibt Brücke seine Vorrichtung auf p. 638 u. f. — „bedeckte ich den metallenen Tisch meines Mikroskops mit einer dünnen in der Mitte für den Durchgang des Lichtes durchbohrten Holzplatte, welche zwei Kupferschienen trug, deren Enden mit denen der Inductionsspirale verbunden wurden. Ferner belegte ich mehrere Objectträger so mit zwei getrennten Stücken Stanniol, dass dieselbèn auf der einen Fläche in abgestumpften Spitzen von sieben Millimeter Breite auf eine Entfernung von zwei bis fünf Millimeter gegen einander liefen, und auf die andere Fläche sich umschlugen, um durch die Berührung mit den Kupferschienen die Verbindung mit der Inductionsspirale herzustellen. In das Feld zwischen den Spitzen wurde der Speicheltropfen gesetzt und mit einem Deckglase bedeckt". Eigentlich kann man sagen, dass die späteren elektrischen Apparate für Mikroskopie mit wenigen Ausnahmen, die weiter unten hervorgehoben werden sollen, Variationen der Brücke'schen oder der Schacht'schen Vorrichtung sind. — H. Schacht [2] p. 74, empfiehlt zum Rollen von kugeligen Gegenständen unter dem Mikroskop, ohne sie zu zerdrücken, das Einlegen von zwei Glasfäden unter das Deckglas, — heute noch den besten Roller. **1862**

A. Rollet [3] 1863 belegt den Objectträger in der Weise wie Brücke mit Stanniol. Rechts und links von der Stelle, wo das Object zu liegen kommt (bei Rollet ein Tropfen Blut, bedeckt mit dem Deckgläschen) ist das Stanniol keilförmig zugeschnitten und bildet ebenfalls wie bei Brücke die Elektroden (p. 383). **1863**

1864 In der 1864 beschriebenen Vorrichtung schnitt Rollet [2] (p. 178) den oberen Stanniolbelag des Objectträgers rechts und links von der Mitte in gerader Linie quer ab und liess den Stanniolbelag in seiner ganzen Breite als Elektrod fungiren. Die Leitung vermittelte noch immer der untere Belag des Objectträgers, welcher quer über zwei Kupferschienen am Objettisch, vermittelst derer das Mikroskop in den Schliessungsbogen eingeschaltet wurde, zu legen war. — Dagegen hat W. Kühne [2] diese Brücke'sche Vorrichtung etwas vereinfacht. Er befestigte mit Siegellack zwei U-förmig zugeschnittene Platinbleche blos auf der oberen Objectträgerfläche so, dass die Schenkeln des U quer über dem Objectträger lagen. Der eine Schenkel des U ist breiter, und auf diesen wird ein mit dem betreffenden Poldrathe verbundener Bleiklotz gestellt; der andere Schenkel ist viel schmäler, dem schmalen Schenkel des anderen Bleches, parallel der queren Mittellinie des Objectträgers, zugekehrt, und der Zwischenraum von diesen schmalen Schenkeln wird vom Object (z. B. einer Muskelfaser) überbrückt. — Ferd. Cohn [1][1] sucht den Einfluss des Lichtes auf die Bewegungen von mikroskopischen Thieren und Pflanzen näher zu bestimmen. Die Thatsache, dass chlorophyllhaltige Organismen, in Folge von chemischen Prozessen, sich in der Regel gegen die Lichtquelle, in der Richtung der auf sie fallenden Lichtstrahlen bewegen, und dass diese Bewegung blos durch die stärker brechbaren Lichtstrahlen von grösserer chemischer Energie hervorgerufen wird: kann in manchen Fällen ein wichtiges Hilfsmittel in die Hand des Mikrographen geben.

1866 Im elektrischen Apparat von Harting [1] (II. Bd. p. 145, Figur 40) 1866 erfolgt die Leitung des Stromes zum Objectträger durch Stanniolstreifen und von diesen zum Object durch kleine, gekrümmte Stücke von Kupfer- oder Platindraht. — Von bis dahin empfohlenen Mitteln zur Betäubung des Objectes unter dem Mikroskop erwähnt Harting (II. Bd. p. 104) ausser dem Luftmangel Aether oder Chloroform, von welchen man etwas zur Seite eines Tropfens, worin sich Infusorien befinden, bringt; ferner Lösungen von Strychnin, Opium oder Aqua Laurocerasi. Er macht indessen darauf aufmerksam, dass diese Mittel alle sehr bald die natürliche Beschaffenheit des Objectes wesentlich ändern. — H. L. Smith [4] führt eine kleine Vorrichtung, welche eine sehr grosse Anzahl von erwähnenswerthen aber auch ganz bedeutungslosen Nachfolgern bekommen hat, und welche die Engländer den mechanischen Finger (mechanical finger) nennen, zuerst in brauchbarer Form in die Mikrotechnik ein. Mit einem mechanischen Finger sollte man kleinste Objecte unter dem Mikroskop fassen, ihnen messbare und mit dem Mikroskop zu verfolgende Bewegungen verleihen, z. B. ihre Lage im Gesichtsfeld beliebig ändern können. Es ist selbstverständlich, dass eine solche Vorrichtung auch beim Beobachten von lebenden Organismen ausserordentlich nützlich sein könnte. Leider entsprechen die bisher vorgeschlagenen mechanischen Finger diesem Ideal nur sehr wenig, und ihre Verwendbarkeit ist äusserst begrenzt, namentlich auf ganz schwache Vergrösserungen beschränkt. Meist steht das, was man mit ihnen erreichen kann, in keinem Verhältniss zu

---

[1]) Momentan liegt blos die englische Uebersetzung (vielmehr Auszug) des Artikels von F. Cohn [1a] im Q. Journ. Micr. Soc. (N. S.) vor mir.

ihrer Complicirtheit und zum Aufwand an Geschicklichkeit und Geduld, welche ihre Handhabung erfordert. Deshalb wollen wir uns hier damit begnügen, die meisten einfach zu registriren. Grösstentheils werden sie unten an der Mikroskopröhre oder am Objectiv selbst befestigt. Der Apparat von Smith besteht im Wesentlichen aus einem etwa 1/10 Zoll langen Stückchen Haar, welches vermittelst eines geschickten Mechanismus in jeder Richtung zu bewegen ist.

Nägeli und Schwendener [1] 1867 benützen ebenfalls den Stanniolbelag eines gewöhnlichen Objectträgers als Elektroden und kitten die Leitungsdrähte zwischen mehreren Lagen von Stanniol auf dem Objectträger ein (p. 459-460). 1867

Th. W. Engelmann [2] schlägt 1868 auch bei mikroskopischen Untersuchungen die Elektroden von Thon mit Kochsalzlösung durchtränkt vor und verwendet sie mit seiner Gaskammer (Engelmann [1]) am Object im hangenden Tropfen. 1868

S. Stricker [2] 1869 benutzt die nach Rollet oder Brücke mit Stanniol, aber blos auf der oberen Seite belegten Objectträger und leitet den Strom nicht durch Kupferschienen, auf welchen der Objectträger ruht, zum Stanniol, sondern durch Federklemmen (wie sie zum Festklemmen des Präparates dienen), welche auf den Stanniolbelag drücken (p. XVI-XVII, Figur V und X). Ausserdem empfiehlt er die Umgestaltung der Glaserkittzelle für den hangenden Tropfen zu einem elektrischen Objectträger, wie auf p. 268 d. v. W. bereits erwähnt. Auch finden wir bei ihm auf p. XVII-XVIII eine kurze, aber sehr treffende Kritik der durch den elektrischen Strom hervorgerufenen Erscheinungen am lebenden Object. — Th. W. Engelmann [3]: eine neue Form von unpolarisirbaren Elektroden bei mikroskopischen Beobachtungen. Die Leitung unmittelbar zum Tropfen, wo sich die Untersuchungsobjecte (im hangenden Tropfen oder zwischen zwei Deckgläsern) befinden, erfolgt durch mit reinem Wasser oder Kochsalzlösung durchtränktem Filtrirpapier (p. 312-314, Figur auf p. 313). Die Wirkung von Inductionschlägen als Mittel zur Hemmung der Bewegungen von lebenden Objecten (Amoeba, Arcella) unter dem Mikroskop wird in die Mikrotechnik eingeführt. 1869

J. Zentmayer [1] 1870 giebt dem mechanischen Finger eine andere Construction und befestigt ihn am festen Theil des Objecttisches, und sucht die Bewegungen der Platte derselben auch für den mechanischen Finger zu verwerthen. Ich glaube, die tadellose, glatte und, wenn man will, auf ganz minimale Excursionen beschränkbare Bewegung z. B. der heutigen Objecttische kann viel besser dann im Interesse eines mechanischen Fingers verwerthet werden (z. B. zum Verschieben oder Wenden eines Objectes), wenn dieser am Objectiv angebracht ist. 1870

Leop. Dippel [1a] giebt 1872 in seinem elektrischen Objectträger eine zweckmässigere Befestigung der als Elektrode dienenden Drähte an, welche an ihrem Ende platt geschlagen und spitzig sind, damit sie leicht unter das Deckglas geschoben werden können, ohne dies stärker emporzuheben (p. 251-252, Figur 197). 1872

D. S. Holmann (1) 1873: der oben (auf p. 293) bereits erwähnte sinnreiche Objectträger, um Strömungen von Flüssigkeiten und damit langsame 1873

Bewegungen der in ihnen suspendirten Formelemente unter dem Mikroskop hervorzurufen.

1876 Wilh. Velten [2] 1876: elektrischer Objectträger, Typus Brücke (p. 346, Figur 1). Der mit Stanniol belegte Objectträger ragt rechts und links über den Mikroskoptisch hinaus und ist hier vermittelst Klemmschrauben mit den Zuleitungsdrähten verbunden. Nichts principiell Neues, aber eine etwas bequemere Vorrichtung als die früheren.

1877 G. Hanks [1] empfiehlt 1877 einen in der That sehr einfachen mechanischen Finger, welcher dennoch ebenso gute Dienste wie die complicirteren leisten kann. Wieder ein Stück Haar oder Borste, welches in der kleinen federnden Zange (stage forceps) der englischen Mikroskope befestigt ist. Das Object wird gegen die in das Centrum des Gesichtsfeldes eingestellte Spitze des Haares bewegt, und zwar in horizontaler Richtung durch die Bewegungen des Objecttisches, in verticaler durch Heben oder Senken des in der Oeffnung des Tisches etwas höher als die obere Fläche des letzteren hinaufgeschobenen und mittels Zahn und Trieb beweglichen Beleuchtungsapparates (z. B. des Wenham'schen Paraboloids). Wenn nun das eventuell etwas befeuchtete Haar das ausgewählte Object berührt, so bleibt letzteres beim Senken des Objectträgers am Haar haften, und man kann, wenn eine andere Stelle des Objectträgers oder ein anderer Objectträger darunter geschoben wird und das Härchen trocknet und so das Object fallen lässt, in dieser Weise einzelne Exemplare des mikroskopischen Untersuchungsmaterials isoliren.

1878 C. Wedl [1] modificirt 1878 den mikroskopischen Elektricitätsentlader von Plössl und findet diese Modification bequemer, als die mit Stanniol belegten Objectträger. Diese Ueberzeugung scheinen indessen nicht viele mit ihm getheilt zu haben, da sein Apparat keine weitere Verbreitung fand.

1879 Nach S. H. Gage [3] 1879 ist die Aether-Narcose zur Immobilisirung von Objecten unter dem Mikroskop besonders empfehlenswerth, was für manche Fälle (nach ihm: Insecten- und Amphibienlarven u. dergl.) gewiss zutrifft, für die meisten aber nicht. — Den von W. B. Rezner [1] vorgeschlagenen mechanischen Finger hat bald darauf H. L. Smith [5] modificirt und verbessert. Das „Haar“ ist hier ein zu einem feinen elastischen Faden ausgezogenes Glasstäbchen. Combinirt mit einer kleinen Röhre, durch welche man im geeigneten Moment etwas Feuchtigkeit auf den Objectträger haucht, ist der Apparat besonders zum Sortiren und Ordnen von Diatomeen u. dergl. sehr zweckmässig; für unsere Zwecke dürfte er indessen kaum mehr als jeder andere in dieser Art leisten. — Die Vorrichtung von R. Hilgendorff [1] zum Beobachten seitlicher Flächen von Objecten ohne Aenderung ihrer Lage besteht aus einem schmalen reflectirenden Glasstreifen, welcher unter einem Winkel von 45° neben das Object gestellt wird. Sie mag wohl billiger sein, als ein kleines, rechteckiges Prisma, wie man es bei dem auf p. 312 u. f. erwähnten Apparate benutzte, zweckmässiger ist sie indessen nicht, da man mit solchen Spiegelstreifen kaum je ein so rein reflectirtes Bild, wie mit den Prismen, bekommen wird.

1880 M. A. Veeder [1] und J. Sullivant [1] beschreiben 1880 beide einen mechanischen Finger; der des Letzteren hat den Vortheil, dass er in jedem Laboratorium mit häuslichen Mitteln, ohne Zuhilfenahme eines Mechanikers hergestellt werden kann. — L. v. Thanhoffer [1] (p. 91, Figur 54): der

Objectträger, mit T-förmigen Platinblechen als Elektroden belegt, ist in einen Holz- oder Hartgummirahmen eingefasst. Die Leitungsdrähte sind, wie bei STRICKER, mit Federklemmen verbunden, welche auf die Platinstreifen drücken. — Bei dem Apparat von JENDRÁSSIK und MEZEY [1] sind die Elektroden dünne Platindrähte, welche in Furchen des Objectträgers eingelassen sind, diesen durchbohren und an seiner unteren Fläche mit den Kupferschienen am Mikroskoptisch in Berührung kommen. In diese Kupferstreifen sind wieder, wie bei BRÜCKE, die Leitungsdrähte hineinzustecken (s. auch bei THANHOFFER [1] p. 92, Figur 55).

J. CHALON [1] 1881: ein mechanischer Finger zum Ordnen von Diatomeen. Es ist wohl möglich, dass man damit, wie der Erfinder mittheilt, 30-40 Diatomeen in einer Stunde zurechtlegen kann; aber darauf ist dann auch der ganze Nutzen des Apparates beschränkt. — C. H. KAIN [1] modificirt den mechanischen Finger von H. L. SMITH [5] in der Weise, dass sämmtliche zum Arbeiten desselben nothwendigen Bewegungen vom Mechanismus eines Mikroskops (grosses Modell) ausgeführt werden; man braucht nur die Spitze des Glashaares in den Focus des benutzten Objectivs (natürlich von ziemlich grosser Brennweite) einzustellen. Ein von KAIN vorgeschlagenes bildumkehrendes Prisma kann beim Arbeiten mit solchen Apparaten in der That von grossem Vortheile sein, da es viele Leute sehr schwer erlernen, Bewegungen in umgekehrter Richtung, als die vom mikroskopischen Bild gezeigte, in geschickter Weise auszuführen. — SIDLE [1]: weitere Modificationen desselben Apparates. 1881

O. STROEBELT [1] 1882 legt bei seinem elektrischen Objectträger zwei mit Stanniol belegte Glasplatten auf einander. Die obere, der eigentliche Objectträger, etwa englisches Format, ist rechts und links mit nach unten hin umgeklappten Stanniolstreifen (Hülsen), welche nicht aufgekittet werden müssen, versehen; unter diese schiebt man von aussen her die als Elektroden dienenden zugespitzten Stanniolplatten und nähert sie einander beliebig. Auf die untere grössere Glasplatte sind blos oben zwei mit den Poldrähten verbundene Stanniolplatten geklebt; auf diese legt man die nach unten geklappten Enden der Stanniolstreifen des oberen Objectträgers. Wie man sieht, bot diese Vorrichtung eigentlich nichts Neues; sie giebt aber dem alten BRÜCKE'schen Apparat eine viel bequemere Form, welche sich jederzeit in ein paar Minuten herstellen lässt. — H. FOL [4 und 5]: Betäuben von Seethieren durch Sättigung des Seewassers im Behältniss, wo sie sich befinden, mit Kohlensäure. Wir erwähnen diese Methode deshalb auch hier, weil sie sich gelegentlich auch unter dem Mikroskop mit Erfolg ausführen lässt. Man kann z. B. die Kohlensäure während der Beobachtung in die auf p. 255 d. v. W. beschriebene Circulationskammer oder in das Circulationskästchen (p. 252) oder endlich in jede beliebige Gaskammer leiten, wo das Object etwa im hangenden Tropfen untersucht wird. 1882

ARNOLD BRASS [1] 1884 macht den übrigens schon von EHRENBERG gemachten Vorschlag, mikroskopische Organismen, damit sie sich während der Untersuchung ruhig verhalten, mit zerriebenen Pflanzentheilen u. s. w. vorher ordentlich zu füttern. Sie sollen aber stets mit reichlichem Wasser, thierische Organismen in Gesellschaft von pflanzlichen unter das Mikroskop gebracht werden (p. 40). — E. STAHL [1] giebt in einer Arbeit über Biologie 1884

der Myxomyceten in einer blos nebenbei gemachten Bemerkung (Anmerkung zu p. 72) den ersten Wink zur Untersuchung von sich sonst sehr rasch bewegenden und deshalb schwer zu beobachtenden Organismen in dünner Gelatinegallerte. Er schildert nämlich den Modus, wie sich Euglenen, die er mit einem Tropfen ihres Mediums in sehr dünne, zitternde Gelatinegallerte brachte, dort je nach der Beleuchtung ausbreiten. Sie bleiben also am Leben, können sich aber in der Gallerte offenbar viel langsamer, als z. B. in Wasser bewegen. Ein ähnlicher Kunstgriff wurde später direct für unsere Zwecke wiederholt empfohlen (s. w. u.). — W. KRAUSE [2]: ein durchbohrter Objectträger zum Beobachten des mikroskopischen Präparates von beiden Seiten.

1885 R. T. LEWIS [2] 1885: eine elektrische Vorrichtung, indessen mehr für mikrophysikalische, als biologische Zwecke geeignet. — C. W. ZENGER [1]: ein durchbohrter Objectträger, wie der von W. KRAUSE, als etwas Neues beschrieben. — E. H. GRIFFITH [1]: eine am Objectiv angebrachte Borste als mechanischer Finger (hauptsächlich zum Bearbeiten von Diatomeen). — J. MAYER [1] combinirt die Curarevergiftung mit der lähmenden Wirkung von Inductionsströmen (p. 216) bei Beobachtung des Kreislaufes von Batrachierlarven. Die Lähmung durch Curare wird in der Weise am besten erzielt, dass man die unverletzte Larve mit einigen Tropfen „einer verdünnten (hellbraunen) Curarelösung“ (p. 215) auf den Objectträger bringt und sich dort etwas bewegen lässt, wodurch geringe Verletzungen der Haut das Eindringen des Giftes beschleunigen. Die Wirkung tritt in 10-15 Minuten ein. — C. RABL [2]: der auf p. 270 d. v. W. besprochene Objectträger zum Beobachten von beiden Seiten.

1886 E. H. GRIFFITH [2] 1886: der erwähnte mechanische Finger, noch mehr vereinfacht, aber auch umso weniger brauchbar.

1887 T. J. BRIANT [1] 1887: ein in der Mitte durchbohrter Objectträger für Beobachtungen von beiden Seiten, aus drei auf einander geklebten Stücken Kartenpapier von gewöhnlicher Objectträgergrösse. Ein an die Mikrotechnik des vorigen Jahrhunderts erinnernder Nothbehelf. — A. SCHUBERG [1]: das Rollen des Untersuchungsobjectes durch Unterlegen von fein ausgezogenen Glasfäden unter das Deckglas ermöglicht (die Methode von SCHACHT).

1889 MAX VERWORN [2] benutzte 1889 bei seinen Protistenstudien zur polaren Erregung von Actinosphaerium, Pelomyxa, Polystomella, Amoeba, Paramaecium, Bursaria u. s. w. als Elektroden Leisten von porösem Thon, welche, auf den Objectträger aufgekittet, die rechte und linke Seitenwand einer Zelle bildeten. An die äusseren Seiten der beiden Thonleistenelektroden wurden zwei unpolarisirbare Pinselelektroden angelegt von der Beschaffenheit, wie sie in der Physiolgie allgemein gebräuchlich sind. Oder es wurden anstatt der Leisten nach unten gekrümmte Thonspitzen geformt, welche, auf einem Kittklotz am Objectträger befestigt, blos mit ihren Spitzen in den Tropfen Wasser mit den Untersuchungsobjecten tauchten (p. 7, 8, Figur I und II). Auch bewegliche Thonspitzenelektroden wurden gebraucht, welche man anstatt der Pinsel in den Thonpfropf der Elektrodenröhren befestigt (p. 30, Figur IX). — A. LOOS [1]: Lähmung von Froschlarven durch Inductionsströme.

1890 C. B. SCHÜRMAYER [1] 1890 untersucht den Einfluss verschiedener äusserer Agentien auf einzellige Wesen, so von thermischen (Temperaturen

von unter 8⁰ und über 25⁰ C., zwischen welchen sich das Leben der Protozoen normal abspielt), von chemischen (salpetersaures Strychnin, Antipyrin, Cocaïn, Antifebrin, Chloralhydrat, Chloroform) und von Farblösungen (Cyanin, Malachitgrün). Da die untersuchten Eingriffe alle unvermeidlich den Tod des Versuchsobjectes herbeiführten, so haben die Resultate von SCHÜRMAYER zum Theil mehr für das folgende Capitel über Untersuchungsmethoden des absterbenden Objectes, zum Theil aber blos für den Abschnitt über Fixirung (oder Tinction) Interesse. Allein auch zum Lähmen oder Reizen des Objectes ohne Abtödtung können die von ihm angewandten Mitteln mit den nothwendigen, bereits besprochenen Cautelen gelegentlich Verwendung finden. Namentlich wird unsere Aufmerksamkeit durch SCHÜRMAYER's Versuche wieder auf das salpetersaure Strychnin gerichtet, welches ja schon EHRENBERG als ein sehr gutes Mittel zum Abtödten von mikroskopischen Organismen in Expansion erkannt hatte. Auch combinirte Strychnin- und Wärmewirkung ergab, besonders bei Stentor, Resultate, welche mutatis mutandis auch für die Immobilisirung während der Untersuchung verwerthbar sein könnten. — Wichtiger indessen für die Untersuchung während des Lebens ist die von BRUNO HOFER [1] entdeckte lähmende Wirkung des Hydroxylamins, besser von dessen schwefelsaurem oder salzsaurem Salze, auf die contractilen Elemente. War nämlich die Lösung nicht zu stark und die Einwirkungsdauer nicht zu lang, so kann man Protozoen, Rotatorien u. dergl. in reinem Wasser wieder zum Leben zurückbringen. Seinen grössten Werth hat übrigens auch das Hydroxylamin für die Vorbehandlung contractiler Organismen behufs Fixirens, weshalb wir uns erst im V. Abschnitt näher damit beschäftigen werden. — Ebenfalls in der Bestrebung sich rasch unter dem Mikroskop hin- und herbewegende Organismen so zu sagen zu zähmen, ist auch JOSEPH EISMOND [1], unabhängig von den Versuchen STAHL's, auf die Idee gekommen, das Untersuchungsmedium durch Beimischen einer Colloidsubstanz zu verdicken und dadurch die Bewegungen des Objectes zu hindern. Von verschiedenen Stoffen erwies sich blos Kirschleim als brauchbar. Ein, je nachdem man blos eine Verlangsamung oder einen Stillstand der Ortsbewegungen, wobei die Bewegungen der einzelnen Organe nicht aufhören (die Cilien weiter schlagen, die Vacuolen weiter pulsiren u. s. w.), erzielen will, kleinerer oder grösserer Tropfen einer dickflüssigen, wässerigen Kirschleimlösung wird dem Wassertropfen am Objectträger, wo sich die Thiere befinden, beigemischt. Wir selbst haben uns mit dieser Methode und ähnlichen deshalb nicht eingehender in diesem Capitel beschäftigt, weil wir uns überzeugt haben, dass ähnlich behandelte Infusorien, Rotatorien u. dergl. allzubald die Erscheinungen des allmähligen Absterbens zeigen. Da aber an und für sich auch diese eine wichtige Quelle unserer Kenntnisse der feineren Structur der Organismen sind, so werden wir unsere Erfahrungen in Betreff dieser Methode im folgenden Capitel um so ausführlicher mittheilen.

1891 Nach A. CERTES [1] 1891, welcher die Methode von EISMOND sehr empfiehlt, bleiben Ciliaten, Flagellaten, ja sogar Amoeben in der Kirschleimlösung über 48 Stunden lang am Leben. (Ob aber auch unverändert, wird nicht mitgetheilt. Kann ja unter Umständen ein kleinerer oder grösserer Theil des Körpers z. B. von Infusorien sich stark verändern, ja sogar ganz zu Grunde gehen, und doch bleibt der andere, oft noch ziemlich lange, am Leben.)

Certes will auch die Farblösungen, welche Protozoen während ihres Lebens tingiren sollen, der Kirschleimlösung beigemischt anwenden.

1892 Durch Stahl auf die Methode aufmerksam gemacht, versuchte P. Jensen [1] 1892, Gelatine absichtlich zur Immobilisirung von mikroskopischen Organismen während der Beobachtung zu verwenden. Er hat je nachdem eine 0·5- bis 3procentige Lösung in Leitungswasser gebraucht. Die verschiedenen Thiere verhielten sich dieser gegenüber sehr verschieden. In der 3procentigen Lösung, welche bei Zimmertemperatur schon eine starre Gallerte bildet, können Infusorien gar keine Ortsveränderungen mehr ausführen und gehen darin auch, spätestens nach einigen Stunden, vollkommen zu Grunde. Dagegen sah Jensen in einer 0·5procentigen Lösung noch eine beträchtliche Vermehrung von Paramaecium aurelia. In einer solchen werden aber — fanden wir — die Bewegungen der meisten hier in Betracht kommenden Objecte kaum genügend verlangsamt, höchstens etwas unnatürlicher gemacht. Jensen giesst die durch Erwärmen flüssig gemachte Lösung in ein Uhrschälchen, setzt nach dem Erkalten, aber bevor sie noch erstarrt ist, einen Tropfen mit den Versuchsthieren zu, rührt um und giebt dann einen Tropfen von der Flüssigkeit auf den Objectträger, wo sie bald erstarrt, weshalb das Präparat rasch mit dem Deckglas bedeckt werden muss.

E. Methoden, welche das vom lebenden Object gewonnene mikroskopische Bild weiter zu verwerthen helfen. Bestimmung der Dimensionen und die Abbildung des Objectes (zu § 29 und überhaupt zum ganzen IV. Abschnitt).

Eigentlich gehören die Methoden, deren Litteratur sammt den wichtigsten Daten ihrer Geschichte hier möglichst kurz registrirt werden soll, nicht mehr in den Rahmen dieses Buches, um so weniger, da es sich hier grösstentheils um die Erfindung und Vervollkommnung von Instrumenten handelt, welche wir ja nicht beschreiben wollen, so die Apparate zum Zeichnen und Messen. Es ist aber evident, dass die Möglichkeit, rasch, bequem und genau messen und zeichnen zu können, nirgends von so grossem Einfluss auf die wissenschaftliche Verwerthung des Beobachteten ist, als gerade bei der Untersuchung des Lebenden, und ein jeder Fortschritt in dieser Richtung hat auch den in diesem Capitel behandelten Methoden eine grössere Bedeutung gegeben, andererseits aber auch zur Begründung einer rationellen Mikrotechnik überhaupt beigetragen. Nur wenn man Dimensionen und Formverhältnisse des lebendigen Zustandes genau aufzeichnen kann, wird man eine sichere Grundlage zur Beurtheilung dessen gewinnen, was man vom lebenden Object in den Dauerpräparaten zu erhalten im Stande ist. Und deshalb soll dem Leser durch die folgenden Hinweise ein eingehenderes Studium auch von diesem Gegenstande erleichtert werden.

1665 Die erste Mess-Methode, welche bereits 1611 beim Teleskop von Keppler angewandt wurde, hat für das Mikroskop Robert Hooke [1] (in der Vorrede) 1665 vorgeschlagen. Sie ist heute noch die einfachste, mit den geringsten Mitteln und am raschesten ausführbar, auch besitzt sie gerade bei der Untersuchung während des Lebens heute noch gewisse Bedeutung. Mit dem einen Auge betrachtet man das mikroskopische Bild und mit dem anderen sieht man auf einen getheilten Massstab, welchen man so nahe zur optischen Achse des Mikroskops, wie nur möglich, in der Höhe des Objecttisches anbringt.

Zusätze und Berichtigungen

Auf p. 1, 1. Zeile ist statt „über die" von den zu setzen.

Auf p. 11, 13. Zeile von unten ist statt „Rivet-Leiser" Rivet-Leyser zu setzen.

Auf p. 17, 10. Zeile von oben ist statt „Lebeswesen" Organismen zu setzen.

Auf p. 55, 12. Zeile von unten ist statt „Aufhellen in Terpentinöl" Vorbetten in Terpentinöl zu setzen.

Auf p. 56, 9. Zeile von unten ist nach „Auf p. 146 hebt Beale" einzuschalten mit J. L. Clarke's Worten ([3] p. 66).

Auf derselben Seite ist in der letzten Zeile nach „Leere Phrasen, welche" einzuschalten (zum Theil beinahe Wort für Wort nach Clarke [3] p. 66) bei ihm.

Auf p. 57 ist nach der 2. Zeile von unten folgende Anmerkung zu setzen: Daniel Cooper [1], welcher 1841 eigentlich zuerst das Recept der Goadby'schen Flüssigkeit veröffentlichte, erwähnt bei dieser Gelegenheit, als Conservirungsmittel, noch eine Lösung von essigsaurem Aluminium (super-acetate of alumina), Kochsalzlösung, bereits vor 20 Jahren von Dr. Cook empfohlen, Salzlösung mit Essigsäure nach J. T. Cooper, Kreosot und Kopalöl (oil of copal). Keines von diesen Medien soll sich aber bewährt haben.

Auf p. 60 ist in der 3. Zeile nach „Die Goadby'sche Flüssigkeit" einzuschalten (s. bei D. Cooper [1] p. 183).

Auf p. 63, 18. Zeile von unten lies anstatt „M. Schutze" M. Schultze.

Auf p. 64 ist in der 2. Zeile von oben der Satz „Das Glycerin hat etc." in der folgenden Weise zu ändern: Das Glycerin hat Robert Warrington [1] 1848 in die Mikrotechnik eingeführt.

Auf derselben Seite ist in der 12. Zeile nach „das Glycerin" einzuschalten obwohl es H. Schacht [1], mit seiner Anwendungsweise allerdings noch nicht ganz vertraut, bereits 1851 erwähnt,.

Auf p. 72 ist in der 11. Zeile nach „zuerst" 1851, nach „in den" zwei einzuschalten. In der folgenden Zeile ist nach „Deane" ([1] 1852) zu setzen und statt „aus welchem Jahre konnte ich nicht ermitteln" (p. 150); zwei Zeilen weiter nach „das zweite" (p. 153).

Auf derselben Seite 14. Zeile lies statt „1858" ([1] 1858) 1857; in der folgenden Zeile statt „später kam" welcher, und eine Zeile noch weiter, statt „hinzu" hinzusetzte (p. 119). Ebendort ist in der 5. Zeile von unten statt „Auch erwähnt" Indessen erwähnt zu setzen und in der folgenden Zeile „noch" zu streichen.

Auf p. 73 ist in der 5. Zeile von unten statt „[2a] und [2b]“ [2a], [2b] und [3] zu setzen; in der folgenden Zeile statt „dem Jahre etc.“ den Jahren 1857, 1858 und 1860.

Auf p. 74 ist in der 1. Zeile vor „SHEARMAN“ THOMAS und nach „RALPH“ ([1] p. 37) einzuschalten.

Auf p. 87 ist in der 17. Zeile von unten statt „1871“ 1868 (s. GABR. RIVET [1] p. 31), statt „BRAND (s. GRÖNLAND, CORNU ET RIVET oder WEIGERT [5])“ BRANDT 1872 (s. ALEXANDER BRANDT [1] p. 175) zu setzen. Ebendort ist weiter unten vor „WALDEYER [2]“ einzuschalten R. LONG [1] und.

Auf p. 88, 22. Zeile von unten lies RIVET-BRANDT statt „RIVET-BRAND“.

Auf p. 244 in der 13. und 10. Zeile von unten lies BOETTCHER statt „KÜHNE“ und in der 7. Zeile von unten BOETTCHER statt „KÜHNE (oder BÖTTCHER)“.

Auf p. 246, 8. Zeile von oben lies BOETTCHER statt „KÜHNE“.

Auf p. 248, 4. Zeile von oben lies STRASBURGER statt „STRASSBURGR“.

Auf p. 270, 13. Zeile von oben ist statt „Anfang der vierziger“ Ende der dreissiger zu setzen und in der folgenden Zeile vor „compresseur“ innerhalb der Klammer einzuschalten [1] 1838.

Laboratoriums und ohne besondere Kosten selbst herstellen kann oder überhaupt am besten selbst herstellt. Dagegen ist das eigentliche Wesen der Apparate in seiner Beziehung zu dem von der betreffenden mikrotechnischen Methode Erstrebten, die ihnen zu Grunde liegenden mikrographischen Principien und deren geschichtliche Entwickelung umso ausführlicher behandelt. In Betreff der Schilderung der letzteren sowohl, als auch in Betreff der Methoden strebt das Buch nach einer Vollständigkeit, wie sie zu erreichen den Mitteln und Kräften eines Einzelnen nur irgend gegeben ist. Es geht von der Ueberzeugung aus, dass in manchen bereits vergessenen Methoden längst vergangener Zeiten und in vielen, jetzt unbeachteten der Gegenwart Keime verborgen liegen, welche, einmal zufällig enthüllt und von einer passenden Idee befruchtet, der Mikrotechnik noch kostbare Früchte bringen können.

Die Kenntniss der modernen mikrographischen Apparate und ihres Gebrauches wird also beim Leser vorausgesetzt. Sonst erfordert das Buch keine besonderen fachmännischen Vorkenntnisse, sondern nur eine gewisse allgemeine naturwissenschaftliche, insbesondere biologische Bildung. Es ist zwar hauptsächlich für Zoologen, Anatomen, Histologen und Embryologen bestimmt, zur mikrotechnischen Schulung des Anfängers sowohl als auch zur Erleichterung der Arbeit des geübten Forschers; indessen dürfte es jedem nützlich sein, der sich mit Mikrographie in biologischer Richtung beschäftigt, so dem Botaniker, dem Physiologen, dem physiologischen Chemiker, dem pathologischen Anatomen und Histologen sowie dem Mediciner überhaupt. Die Grundsätze, nach denen der Stoff behandelt ist und welche diese Voraussetzung wohl rechtfertigen, sind in der Einleitung erörtert.

Das ganze Werk wird etwa 40 Bogen umfassen, die zweite (Schluss-) Abtheilung ist sicher im Laufe des nächsten Jahres zu erwarten. Mit ihr werden auch Vorrede, Titel und ein sehr ausführliches Inhaltsverzeichniss des vollständigen Werkes geliefert. — Die beiden Abtheilungen sind nicht einzeln käuflich.

Braunschweig, Juli 1896

Harald Bruhn
Verlagsbuchhandlung.

(Inhaltsverzeichniss auf 4. Umschlagseite)

Inhalt

Allgemeiner Theil

Specieller Theil







